Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

52. BAND, 5. HEFT
MIT 46 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 11. FEBRUAR 1959)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1959

Planta (Berl.)

Preis DM 26.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2790 1

52. Band **Inhaltsverzeichnis** 5. Heft

Seite

Resch, A., Über Leptombündel und isolierte Siebröhren sowie deren Korrelationen zu den übrigen Leitungsbahnen in der Sproßachse. I. Teil. Mit 13 Textabbildungen 467

Resch, A., Über Leptombündel und isolierte Siebröhren sowie deren Korrelationen zu den übrigen Leitungsbahnen in der Sproßachse. II. Teil. Mit 11 Textabbildungen 490

Hämmerling, J. und Ch., Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. Mit 1 Textabbildung 516

Werz, G., Weitere Untersuchungen zum Problem der Kernaktivität bei gesenktem Zellstoffwechsel. Mit 1 Textabbildung 528

Clauss, H., Das Verhalten der Phosphorylase in kernhaltigen und kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Mit 2 Textabbildungen 534

Clauss, H., und K. Keck, Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. Mit 3 Textabbildungen 543

Richter, G., Die Auslösung kerninduzierter Regeneration bei gealterten kernlosen Zellteilen von *Acetabularia* und ihre Auswirkungen auf die Synthese von Ribonucleinsäure und Cytoplasmaproteinen. Mit 7 Textabbildungen . 554

Urban, R., Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. II. Mitteilung. Untersuchungen über den jahreszeitlichen und tagesperiodischen Verlauf der Stoffbildung. Mit 5 Textabbildungen . . . 565

Mitrakos, K., Tagesperiodische Schwankungen der Fähigkeit zur Chlorophyllbildung. Kurze Mitteilung. Mit 3 Textabbildungen 583

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 52, S. 467—489 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

ÜBER LEPTOMBÜNDEL UND ISOLIERTE SIEBRÖHREN SOWIE DEREN KORRELATIONEN ZU DEN ÜBRIGEN LEITUNGSBAHNEN IN DER SPROSSACHSE*

I. Teil

Von

ARMIN RESCH

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. September 1958)

A. Einleitung

Lage und Bau der primären Gefäßbündel wird bei den Sproßachsen der Angiospermen in den unterhalb des Urmeristems liegenden halbembryonalen Geweben bestimmt (Determinationszone). Bei den Wurzeln dagegen läßt sich in den allermeisten Fällen eine eigene Initialzelle oder Initialengruppe für den Leitzylinder im Urmeristem selbst erkennen (Plerom). Dann kann man mit gutem Recht von einem „Histogen" (v. HANSTEIN) sprechen. Bei einigen wenigen Angiospermen scheint auch der Sproßvegetationskegel in Histogene, also in Dermatogen, Periblem und Plerom, gegliedert (z. B. *Hippuris*), doch hat sich zeigen lassen, daß die spätere Abgrenzung Rinde-Zentralzylinder nicht mit den Histogengrenzen zusammenfällt, vielmehr Endodermis und Pericambium nach Lage und nicht nach Herkunft determiniert werden. Bei den meisten Angiospermen kann man am Vegetationskegel eine Schichtung in Periblem und Plerom überhaupt nicht mehr feststellen. Dort wird die Tunica-Corpus Konzeption (nach SCHMIDT 1924) verwendet, die neuerdings auch auf die scheinbar in Histogene gegliederten Sproßvegetationskegel ausgedehnt wird. Untersuchungen der letzten Jahre beschäftigten sich damit, die Lage der Teilungszentren und die Determination am Sproßscheitel näher zu bestimmen (FOSTER, GIFFORD, PLANTEFOL, POPHAM, Literatur-Übersicht u. a. bei BUVAT 1952, LANCE 1952). Die Abstammung der Gefäßbündel jedoch läßt sich nicht auf eine Initialengruppe des Urmeristems, sondern auf den von HELM (1932) untersuchten und benannten *„primären Meristemring"* zurückführen (bei den Dikotyledonen). Dieser Meristemring tritt bei der unterschiedlichsten Anordnung des *Leitgewebes* immer als Ausgangspunkt aller Differenzierungsvorgänge auf, ebenso wie bei den verschieden gebauten Pflanzenarten der Vegetationskegel im Grunde gleichartig ist.

* Teil einer Habilitationsschrift der naturw.-mathem. Fakultät der Universität Freiburg i. Br. (Siehe auch Planta **52**, 121—143.)

Darum liegt das entwicklungsgeschichtliche und entwicklungsphysiologische Problem der Gefäßbündeldifferenzierung weniger in der Entstehung als vielmehr in der Entwicklung des Meristemringes. Dabei üben die Blattanlagen eine Induktion aus, ohne aber wesentlich in die Bündelstruktur einzugreifen. So gibt es z. B. Pflanzen mit decussierter Blattstellung, die eine vollkommen verschiedene Entstehungsweise ihrer Leitungsbahnen zeigen. Das zeigt sich schon daran, daß für die Entwicklung des Meristemringes eine eigene Typologie eingeführt worden ist (HELM, TROLL), die in keiner Beziehung zu den Blattstellungsverhältnissen steht.

Die erste Veränderung des anfänglich nur durch Plasmareichtum gekennzeichneten Meristemringes ist die, daß dessen Zellen infolge der höheren Teilungsrate kleinzelliger erscheinen als die bereits durch Wachstum und Differenzierung vergrößerten und vakuolisierten Rinden- und Markzellen. Gleichzeitig erfahren die Zellen des Meristemringes mit dem beginnenden Internodien-Längenwachstum eine Streckung, die durch ein Vorherrschen der Längsteilungen in diesem Meristem aufrechterhalten bleibt. Damit wird der Übergang des Meristemringes in das *Procambium* (SACHS 1879) oder *Desmogen* (RUSSOW 1873) eingeleitet[1]. Dabei beginnen sich die artspezifischen Unterschiede in der Anordnung und Entwicklung des stelären Gewebes bemerkbar zu machen. Wie bekannt, werden mehrere Typen der Leitzylinderentstehung unterschieden. Wenn sich alle Zellen des primären Meristemringes gleichartig verhalten, entsteht ein *Desmogenring*, Initialring oder, räumlich betrachtet, ein Hohlzylinder von Desmogenzellen, der überall an seiner Außen- und Innenseite in Sieb- und Holzteil übergeht, wobei nur der mittlere Bereich halbmeristematisch bleibt und später zu dem von Anfang an geschlossenen Cambiumzylinder wird. Betrachtet man die frühen Stadien dieser Entwicklung genauer, so ist auffallend, daß die Breite des Desmogenringes und die Bildung der Primanen in den Medianebenen der darüber liegenden Blätter gefördert sind, wie das von den Blattspursträngen eines Bündelringes bekannt ist. Besonders gut ist diese anfängliche Ungleichheit des Leitzylinders bei decussierter Blattstellung zu erkennen (*Veronica traversii*, *Syringa vulgaris*). Die Beeinflussung der Entwicklung durch die Blätter wird bei den Stengeln mit getrennten Gefäßbündeln noch deutlicher. Dort wird der Meristemring nicht im ganzen zum Desmogen, sondern nur an bestimmten Punkten (Desmogenbündel). Diese entwickeln sich sehr stark und schnell und werden alsdann Hauptbündel genannt (= Blattspurstränge). Zwischen diesen entstehen später weitere Desmogenbündel aus dem restlichen Meristemring, lassen aber noch Markstrahlen frei und werden als Zwischenbündel (Stengelspuren) bezeichnet (*Helianthus*-Typ, TROLL u. RAUH

[1] Der Terminus Procambium erweist sich besonders im Unterricht als irreführend, da nur ein Teil seiner Zellen eine Vorstufe des Cambiums darstellt, und er ist bei den geschlossenen Gefäßbündeln, die gar kein Cambium bilden, direkt unangebracht. Die Bezeichnung Procambium dehnte man sogar auf solche prosenchymatischen Zellbündel aus, die gar nicht stelärer Herkunft sind, z. B. epidermale Baststränge (HABERLANDT 1879, 1924; KOCH 1891). Daher wurde in den neueren Auflagen des „Bonner" Lehrbuches der Ausdruck Desmogen wieder eingeführt (Desmos = Bündel). DE BARY (1877) hält die Bezeichnung Initialbündel (bzw. Initialring) für einfacher und deutlicher. Den Gepflogenheiten der entwicklungsgeschichtlichen Terminologie folgend (Spaltöffnungsinitialen, Wurzelhaarinitialen usw.), würde man besser Bündelinitialen (Gefäßbündelinitialen) sagen, denn unter Initialbündel könnte man auch die in der Entwicklung vorauseilenden Hauptbündel (Blattspurstränge) verstehen.

1950, „additional interfascicular bundles": THODAY 1922). Durch die Induktion eines Cambiums in den Markstrahlen (Interfascicular-Cambium) entsteht schließlich ein geschlossener Cambiumring — wenn das betreffende Objekt überhaupt nennenswertes sekundäres Dickenwachstum aufweist. Liefert das interfasciculäre Cambium weiterhin nur Markstrahlen, so bleiben die primären Bündel deutlich getrennt (*Aristolochia*-Typ, s. auch II. Teil). Entstehen aber im ehemaligen Markstrahlbereich auch Xylem- und Phloemelemente, so kann der schließlich zustande kommende Leitzylinder weitgehend einem solchen gleichen, der aus dem Desmogenring hervorgegangen ist.

Die typologische Einordnung eines Objektes wird dadurch erschwert, daß die Ausbildung der unteren Internodien von den oberen abweicht, wie das TROLL und RAUH (1950) bei *Euphorbia*, *Brassica* und *Helianthus* zeigen konnten (Leitzylinder und Bündelring bei derselben Pflanze). Außerdem ist die Zahl der Bündel im Zusammenhang mit dem Erstarkungswachstum und der Dickenperiode der Sproßachse weitgehend variiert (s. auch dazu TROLL und RAUH 1950). Die „Entwicklung" kann nun so dargestellt werden, daß man den Leitbündelbau fertiger Pflanzen vom obersten bis zum untersten (ältesten) Internodium untersucht. Eine echte *Entwicklungs*geschichte ist aber nur dann zu beschreiben, wenn jeweils sich entsprechende Internodien von der embryonalen bis zur endgültigen Ausfertigung zur Beobachtung gelangen.

Bei dem am eingehendsten untersuchten Objekt *Vicia faba* zeigte sich, daß die Entwicklung der verschiedenen Internodien Abwandlungen aufweist. Die Darstellung dieser Eigentümlichkeiten soll in einer besonderen Veröffentlichung erfolgen. Für die hier wiedergegebenen Beobachtungen wurde das 5. Internodium über dem Hypokotyl (zwischen dem 2. und 3. Primärblatt) in verschiedenen Entwicklungsstadien verwendet. Veranlassung zu diesen Untersuchungen waren die cytologischen Beobachtungen am Phloem von *Vicia faba* (RESCH 1954, 1958). Die Untersuchung der histogenetischen und anatomischen Verhältnisse, vor allem bei den Siebteilen, erschien zur Erklärung der im Macerationspräparat vorkommenden Phloemtypen notwendig. Die dabei gefundenen entwicklungsgeschichtlichen Vorgänge zeigten in der Art und Weise, wie Siebröhren (und damit auch Gefäßbündel) entstehen können, eine große Mannigfaltigkeit. Um zu einem, wenn auch nur vorläufigen Überblick zu kommen, wurde ähnlichen Erscheinungen bei anderen Pflanzen nachgeforscht, auch bei solchen, die als Kursobjekte hinlänglich bekannt erschienen. Von diesen wurde *Cucurbita* wegen seiner eigenartigen extrafasciculären Siebröhren gewählt. Bei den Folgeinternodien dieser Gattung wurde jedoch nur nach der pseudo-entwicklungsgeschichtlichen Methode (s. oben) verfahren.

B. Material

Vicia faba L.: Sorte: Francks Hohenloher Ackerbohne 4/10/5. Die Untersuchungen wurden an Freilandpflanzen in den Jahren 1954—1956 ausgeführt.

Aristolochia sipho[1] und *Conium maculatum*: Junge Triebe, Sommer 1956, von Freilandexemplaren aus dem Botanischen Garten Freiburg i. Br. *Cucurbita pepo* L[1]. und *Cucurbita maxima* DUCH[1]: Freilandpflanzen in den Jahren 1955—1956 bzw. Keimlinge (Hypokotyle), aufgezogen im Gewächshaus oder im Lichtthermostat bei einer Temperatur von 25—30° C. Die verwendeten Sorten wurden zum größten Teil von der Samenhandlung Hambrecht, Freiburg, erworben. Die Bestimmung erfolgte nach WEILING (1955), zusätzlich nach einer farbphotographischen Darstellung desselben Autors (1954), sowie nach dem „HEGI". Danach sind die hiesigen Handelssorten folgendermaßen einzuteilen: Speisekürbis (Zucchetti, hellgrüner), Speisekürbis (Cococelle von Tripolis, ohne Ranken) und Ölkürbis: *Cucurbita pepo*. Speisekürbis (großer gelber Zentner, weiße Samen) und Speisekürbis (großer, gelber Zentner, gelbbraune Samen), beide *Cucurbita maxima*. Zum Vergleich wurden Sorten der Maxima- und Pepo-Gruppe aus verschiedenen auswärtigen Gärten bezogen (Frankfurt, Kassel, Coimbra, Budapest). So konnten die bereits vorhandenen Sorten verglichen und die Tabelle überprüft werden. Die oben angegebene Zugehörigkeit der Sorten ist bestätigt worden. — Eine im Botanischen Garten gehaltene Zierkürbisform wurde ebenfalls verwendet. Bei dieser waren die Merkmale „pepo" bis auf die Blütenkronen der weiblichen Blüten, die mehr eine maximaähnliche Form hatten, ausgebildet.

C. Methoden

Handschnitte für Carminfärbung. Kurze Internodienstücke werden in 96% Alkohol 12—48 Std fixiert. Vor dem Schneiden kommen sie in 50% Alkohol, um das schnelle Austrocknen bei der Präparation zu verhindern. Die in 50%igem Alkohol aufgefangenen Schnitte werden auf dem Objektträger oder besser in einer kleinen Schale mit Essigcarmin (EC 0,5%) gefärbt. Will man die angefertigten Schnitte länger aufbewahren, muß die Farblösung mit 50%iger Essigsäure verdünnt werden. Die so behandelten Schnitte gewinnen durch die quellend wirkende Essigsäure das Aussehen von Frischpräparaten und werden wesentlich klarer in den Strukturen, so daß selbst solche Schnitte, die in Alkohol untersucht unübersichtlich erscheinen, nach EC-Anwendung ohne weiteres verwertbar sind. Der Vorteil dieser Methode ist die deutliche Anfärbung der plasmareichen Zellen (Bündelinitialen, halbmeristematische Zwischenbereiche und Geleitzellen), wodurch auch einzelne und sehr kleine Siebröhren leicht aufzufinden sind. Durch Einsaugen von EC-Glycerin (1 Teil EC 0,5 : 10 Teile Glycerin) und Umrandung mit Deckglaskitt lassen sich Dauerpräparate herstellen. Durch das Glycerin quillt allerdings der Zellinhalt der Geleitzellen stark auf. Mit Celodal (*Bayer*) wird dies vermieden, jedoch ist der Brechungsindex dieses Einschlußmittels ungünstig zur Darstellung der jungen und dünnen Zellwände (außer mit Phasenkontrast).

Paraffin-Schnitte. Fixierung: Formalin-Essigsäure-Alkohol 50% = FEA, 12—24 Std, dann Hochführung und Paraffineinbettung. Ein Teil der Präparate wurde in wasserlösliche Einbettungsmittel überführt (Cremolan von „Chroma" und Aquaffin von „*Bayer*"). Die Resultate waren nicht immer befriedigend. Der Austausch des Wassers gegen das Einbettungsmedium muß mit allergrößter Vorsicht vorgenommen werden, da sonst die Präparate noch stärker als bei Paraffineinbettung schrumpfen.

Als sehr gute und immer anwendbare Färbung hat sich die Safranin-Fastgreen Doppelfärbung (JOHANSEN) erwiesen. Von den dort angegebenen Rezepten wurde verwendet für Safranin (Typ „T" 1375 *Merck*) Stammlösung 1% in Alkohol 96%, zum Gebrauch mit einem Teil aqua dest. verdünnt, für Fastgreen (Typ „FCF"

[1] Diese Objekte werden im zweiten Teil der Arbeit beschrieben.

Bayer) in Abänderung zu JOHANSEN eine 1%ige alkoholische Lösung, gelegentlich auch die mit Methylglykol angesetzte Nelkenöl-Alkohol Farblösung. Außer dieser Färbung wurde noch die sog. Flemmingsche Dreifachfärbung (Safranin, Kristallviolett und Orange G) ausgeführt. Sie ergibt eine bessere Anfärbung der Kern- und Plasmabestandteile, ist aber für die histologische Betrachtung weniger günstig als die Safranin-Fastgreen-Färbung. Das gleiche gilt für die ebenfalls durchgeführte Hämatoxylin-Eosin-Färbung nach EHRLICH.

Die Feulgennuclealreaktion erlaubt eine bessere karyologische Auswertung der Schnitte. Die optimale Hydrolysezeit muß bei jeder Untersuchungsserie neu ermittelt werden, so kann z. B. ein längerer Aufenthalt der aufgeklebten Schnitte im Trockenschrank eine Korrektur der Hydrolysezeit notwendig machen. Im allgemeinen lag diese zwischen 5 und 15 min. Zur Erkennung der Nucleolen wurde gegengefärbt, sowohl nach DE TOMASI mit Fastgreen, als auch nach dem Rezept von SEMMENS und BHADURI mit Lichtgrün (aus LA COUR 1947, Seite 227).

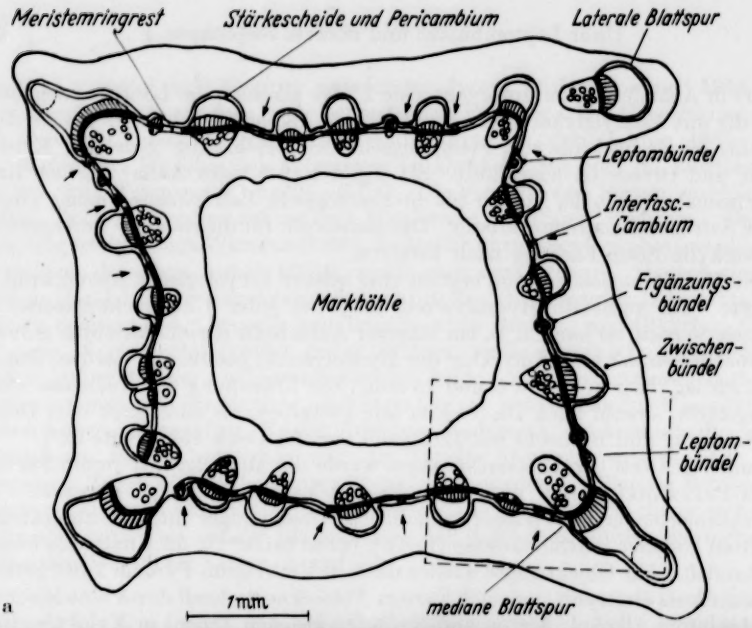
Zum Nachweis der Ribonucleinsäure wurde die Methylgrün-Pyronin-Färbung (UNNA-PAPPENHEIM) mit und ohne Ribonucleasebehandlung verwendet. Die entparaffinierten und in Wasser befindlichen Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten kommen in Ribonuclease (ROTH), (4 Std bei 50° C), die Kontrollen bleiben unbehandelt. Alle Objektträger werden dann in Methylgrün-Pyronin 2 Std gefärbt, in Wasser kurz abgespült und nach kurzem Abtrocknen schnell durch eine Mischung von absolutem Alkohol, Aceton und Xylol (zu gleichen Teilen) in Xylol überführt und zu Dauerpräparaten verarbeitet.

Eine ganz einfache Schnellfärbung von Paraffinschnitten läßt sich so durchführen, daß die Objekte bereits im steigenden Alkohol mit Eosin gefärbt werden. Nach dem Entparaffinieren im Xylol kann direkt eingebettet werden. Noch besser ist eine Gegenfärbung mit Fastgreen, wie sie sonst zusammen mit Safranin verwendet wurde. Die Schnitte müssen nur sehr schnell durch die Alkohol-Xylol-Stufen geführt werden und dürfen nur einige Sekunden in der alkoholischen Fastgreen-Lösung verbleiben, da sonst die Eosin-Färbung wieder ausgewaschen wird. Auf diese Weise kann man schon 1 Std nach dem Schneiden auswertbare Schnitte erhalten. In einigen Fällen wurde auch die von ESAU (1948) empfohlene Resorcinblau-Bismarckbraun-Jodgrün-Färbung ausgeführt.

D. Beobachtungen

I. Vicia faba

Einführung. Der „Leitzylinder" der primären Sproßachse, die vierkantig und leicht geflügelt erscheint, wird repräsentiert durch Einzelbündel, die sich auf dem Querschnitt in einer beinahe quadratischen Anordnung zeigen. Die Bezeichnung „Leitzylinder" ist zwar nicht stereometrisch, aber anatomisch-physiologisch berechtigt, da alle Bündel des Vierecks von einer gemeinsamen Stärkescheide umgeben sind. Bei der Betrachtung von Querschnitten hat sich der Ausdruck Bündelring für einzelne, im Kreise stehende Gefäßbündel eingebürgert. Wir wollen auch hier von einem Bündelring sprechen, obwohl die Anordnung der Gefäßbündel — im Querschnitt gesehen — viereckig bis quadratisch ist. Außerhalb des Bündelringes und damit auch außerhalb der Stärkescheide, stehen in zwei gegenüberliegenden Ecken *isolierte*, rindenständige Gefäßbündel mit einer eigenen Stärkescheide. Diese Bündel sind die lateralen Blattspurstränge, die das darüberstehende Blatt und vor allem dessen Nebenblätter versorgen. Die beiden im Bündelring eingeschlossenen Eckenbündel, die in der anderen Diagonalen stehen, führen jeweils als medianer Blattspurstrang zu einem der darüberstehenden Blätter (distich wechselständige Blattstellung). Die lateralen Blattspurstränge verlaufen nur über ein Internodium von den Stengelspuren getrennt, da sie in jedem Knoten



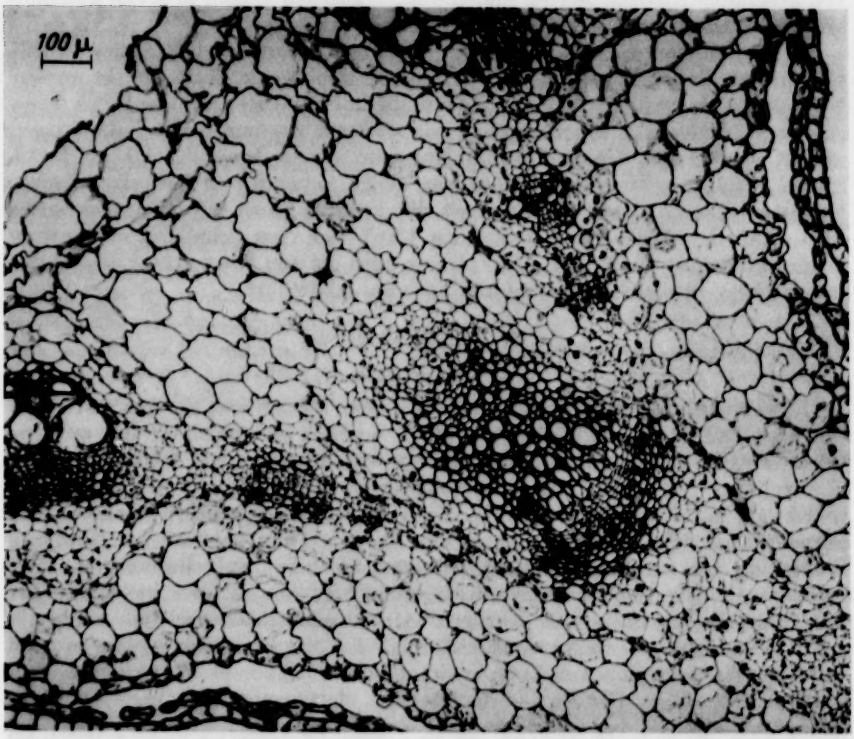


Abb. 1 a u. b. *Vicia faba.* a Stengelquerschnitt durch das 5. Internodium, bei Beendigung des primären Dicken- und Längenwachstums; Bildung des Interfascicular-Cambiums. Zeichenerklärung: Cambium: dicke schwarze Linie, dazwischen Meristemringreste. Schraffiert: Leptom (Siebteil), darüber freigelassen die prospektiven Phloemsklerenchymkappen. Xylem durch Einzeichnen der größeren Gefäße markiert. Isolierte Siebröhren = Pfeile. Das eingezeichnete Rechteck entspricht der Mikrophotographie (b)

ins Blatt ausbiegen; die medianen dagegen durchziehen zwei Internodien ohne Anastomosen, liegen aber innerhalb der Stärkescheide und treten erst am Knoten aus dem Bündelring und der Stärkescheide des Leitzylinders aus (GROOVE 1955).

Weitere Einzelheiten des Sproßquerschnittes gehen aus der Abb. 1 hervor. Erwähnt sei nur noch das Sklerenchym und die isoliert stehenden Siebröhren. Das Sklerenchym entwickelt sich über den Siebteilen der größeren Gefäßbündel als mächtige Kappe (Sklerenchym-Schiene, vgl. die Bemerkungen über die pflanzenanatomische Terminologie von HUBER 1955). Die medianen Blattspurstränge besitzen einen weit in die Stengelflügel hinein verlegten Sklerenchymteil, der oft

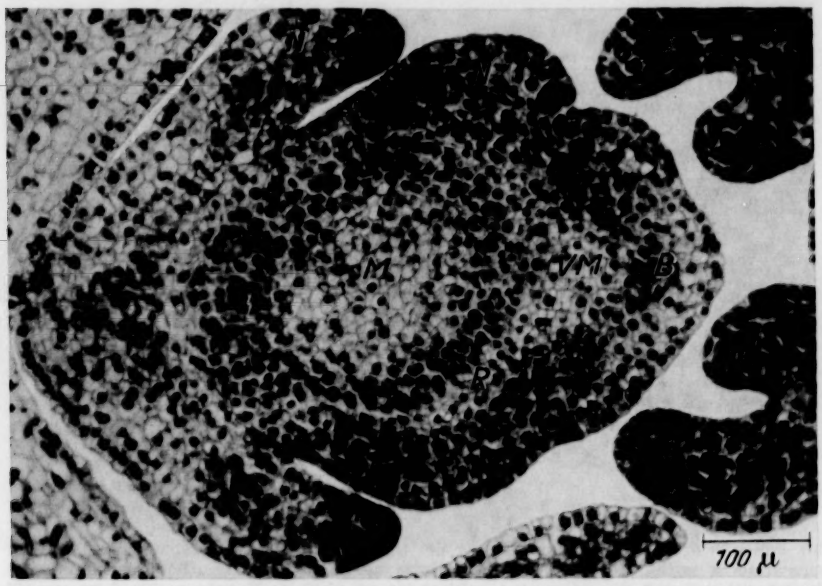


Abb. 2. *Vicia faba*, Querschnitt durch den jungen Sproß 300 µ unter dem Vegetationskegel. Der Meristemring an seinen plasmareichen Zellen erkennbar. *N* Nebenblatt, *B* Blattgrund mit Desmogenstrang (Bündelinitiale) des medianen Blattspurstranges, *VM* Ventralmeristem, *R* Rinde, *M* Mark

wie ein separates Bastbündel erscheint, da zwischen ihm und dem Siebteil sehr viel Zwischengewebe entwickelt ist. Zwischen den Gefäßbündeln finden sich außer kleineren, schmächtigeren Bündeln einzelne oder in Gruppen stehende Siebröhren ohne Holzteil. Sie werden als interfasciculäres *Leptom* (da immer ohne Sklerenchym) bezeichnet.

Die Entwicklung des Meristemringes (Histogenese der Gefäßbündel). Die embryonale Sproßachse ist zylindrisch, der Vegetationskegel ist im Querschnitt $\pm$ rund. Auch in den Schichten unterhalb des Vegetationskegels, in denen die Differenzierung beginnt, ist der Achsenquerschnitt unverändert, wird allerdings von dem mächtigen, stengelumfassenden Blattgrund und den Nebenblättern weitgehend maskiert. Er ist aber topographisch zu umschreiben, wenn sich die Vorstufen des Leitzylinders abzeichnen (Meristemring Abb. 2). Nur in den Knoten ist die Abzweigung des medianen Blattspurstranges und darüber als Unterbrechung des Meristemringes die Blattlücke erkennbar. Außerhalb des Meristemringes

liegen in der Rinde die beiden lateralen Blattspurstränge. Diese werden an ihrer Vereinigungsstelle mit dem stammeigenen prospektiven Leitzylinder ohne Lücke in den Meristemring aufgenommen (Abb. 3a).

Der Bereich des Meristemringes ist auf wenige Zellagen beschränkt, denn sehr bald verändert sich der Sproßquerschnitt zu der ihm eigentümlichen viereckigen Gestalt. In diesem Zeitpunkt werden die Initialen

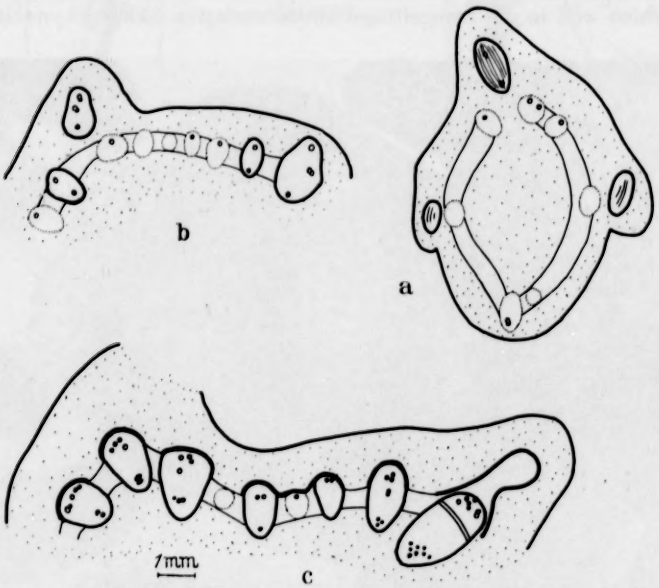


Abb. 3a—c. *Vicia faba*, die Entwicklung der Sproßachse vom Meristemring zum Bündelring. a Meristemring mit Blattlücke, die Blattspurstränge schon deutlich erkennbar, z. T. mit Primanen, soweit sie zum nächsten Blatt führen. b Seitenlinie eines Bündelringes, die von den Ecken ausgehende progressive Entwicklung der Gefäßbündel zeigend (Xylemprimanen = schwarze Punkte; Phloemprimanen = Kreise; dick umrandete Gefäßbündel = fortgeschrittene Entwicklung.) c die Bündel erster und zweiter Ordnung deutlich abgesetzt und mindestens mit Primanen, im Medianbündel (rechts) bereits Cambium. Im alten Meristemring bilden sich neue Zwischenbündel zweiter Ordnung. Über dem Medianbündel wird die Abgliederung des Perizykelsklerenchyms zu einem scheinbar eigenen Sklerenchymbündel sichtbar

der primären Einzelbündel erkennbar, da dort die Vermehrung der Schichten des Meristemringes durch Längsteilungen stattfindet. Der Meristemring gliedert sich zunächst in Desmogenbündel und in nicht determinierte Zwischenbereiche von unverändertem Meristemcharakter. Die Bildung der prospektiven Bündel, also die Formierung der Desmogene, erfolgt nicht gleichzeitig. Zuerst werden die Medianbündel und die Lateralbündel der Blätter angelegt, wobei immer die drei Blattspurstränge in der Entwicklung vorauseilen, die zum nächsten Blatt führen (Abb. 3b, c, 5). So erscheint der junge Bündelring an den vier „Ecken" durch Differenzierungszentren betont, die auch bei der weiteren primären Achsenentwicklung eine Vorrangstellung einnehmen (Haupt-

bündel). Beidseits der Differenzierungszentren werden in der Folge weitere Desmogenbündel durch Längsteilungen aus dem Meristemring formiert, bis schließlich auch die Seiten des inzwischen durch die Art des Dickenwachstums deutlich gewordenen Bündelvierecks von Desmogenbündeln besetzt sind (Zwischenbündel Abb. 3b). Diese zeigen aber noch keine Leitungselemente, auch wenn in den Eckenbündeln bereits mehrere Primanen vorhanden sind. Dann differenzieren sich die

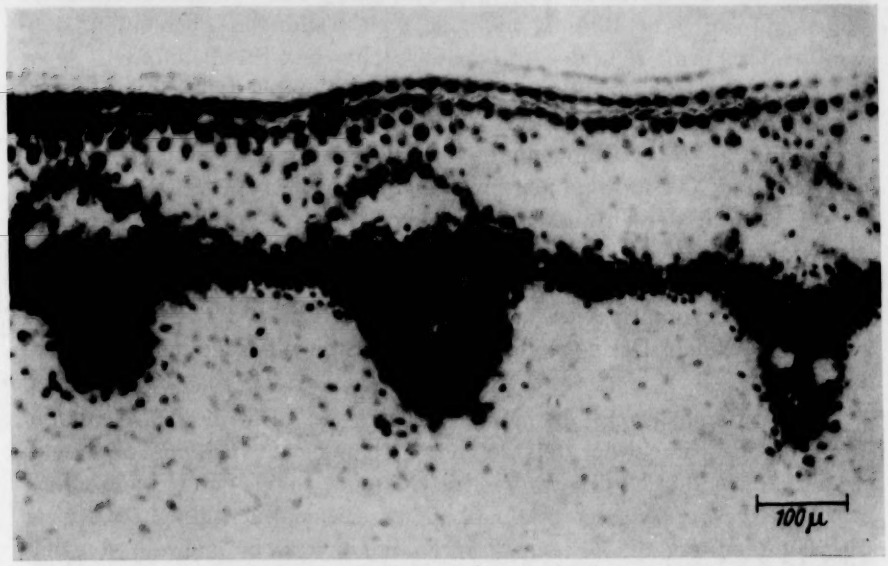


Abb. 4. *Vicia faba*, Handschnitt, Essigcarmin. Zwischen den Bündeln der ehemalige Meristemring mit starker Kern- und Plasmafärbung. Außerdem sind in den Bündeln das Cambium, die Xylemparenchymzellen, die embryonalen Siebteile und die Stärkescheide, die den plasmaarmen prospektiven Sklerenchymteil umgibt, durch starke Färbung gekennzeichnet; ebenso die zwei äußersten Rindenschichten. Die Epidermis ist nur schwach sichtbar

Primanen in den den Eckenbündeln benachbarten Desmogenbündeln; erst zuletzt treten sie bei den in der Mitte gelegenen auf. In der gleichen Abhängigkeit erfolgt die Ausbildung der weiteren primären Gefäßbündelteile (Metaxylem und Metaphloem) und die Bildung des Fascicularcambiums (Abb. 3c).

Zwischen den Bündelinitialen bleibt der ehemalige Meristemring erhalten, der sich immer noch durch Plasmareichtum von den größeren und bereits differenzierten Rinden- und Markzellen unterscheidet (Abb. 4). Diese *Meristemstreifen* sind noch teilungsbereit und nehmen am primären Dickenwachstum teil. Die Zellen sind aber nicht mehr isodiametrisch wie im typischen Meristemring, sondern prosenchymatisch wie die Desmogenzellen und noch nicht zu Markstrahlen (Interfasciceln) determiniert. Der restliche Meristemring ist nun interfasciculäres

Prosenchym oder *interfasciculäres Halbmeristem*. Bei dem weiteren primären Dickenwachstum vergrößern sich die Abstände der Bündel eines Leitzylinders erheblich (Dilatation). Dann ist zu beobachten, daß an bestimmten Stellen des interfasciculären Halbmeristems weitere Längsteilungen stattfinden, die eine Verdickung dieser Schicht bewirken, wie bei der Entstehung der ersten Desmogenbündel aus dem Meristemring. Allerdings sind die später angelegten Zwischenbündel nicht so kräftig entwickelt (Abb. 1, 8)[1]. Sie bestehen aus weniger Desmogenzellen, da bei ihrer Bildung nicht so viele Teilungen abgelaufen sind wie bei der Formierung der kräftigeren Blatt- und Stengelbündel. Aber es besteht kein grundsätzlicher Unterschied in der Entwicklungsart und Herkunft. Das interfasciculäre Halbmeristem besitzt noch die Fähigkeit zur Bildung von Desmogenbündeln, die in der üblichen Weise mit Phloem- und Xylemprimanen ihre Differenzierung beginnen. Allerdings ist die Anzahl der Primanen reduziert. Auch die prospektive Sklerenchymkappe, die aus den äußersten Desmogenschichten hervorgeht, ist bei den nachträglich hergestellten Bündeln wesentlich kleiner und weniger in die Rinde vorspringend, woran man auch die erste und die zweite Serie der aus dem Desmogen entstandenen Stengelbündel unterscheiden kann.

Die Differenzierung der Meristemringreste. Die interfasciculären Bereiche sind nach der letzten Ausfertigung von Desmogenbündeln immer noch durch die intercellularenfreie, eckige und kleinzellige Struktur gekennzeichnet (Abb. 5). Der Plasmareichtum hat jedoch abgenommen und die Zellen unterscheiden sich nicht mehr so von der Rinde und von dem Mark, wie das vorher der Fall war. Die äußerste Schicht des prosenchymatischen Interfascicels, das *Pericambium*, das direkt der Stärkescheide anliegt, hat etwas weitere Zellen und geht im Bereich der Gefäßbündel in das großzellige Gewebe zwischen Stärkescheide und Leptom über. Der ehemalige Meristemringbereich gibt sich also noch deutlich zu erkennen. Die Interfascicel sind keineswegs als Markstrahlen anzusprechen, da sie eine deutliche *Abgrenzung* von Rinde und Mark darstellen (ganz abgesehen von der Stärkescheide). Außerdem ist die Fähigkeit der Meristemringzellen, Leitungselemente zu bilden, noch nicht erloschen, denn in den äußeren Schichten entwickeln sich noch Siebröhren. Im Gegensatz zu der Bildung von Siebprimanen geht dieser Siebröhrenbildung keine Schichtenvermehrung des ehemaligen Meristemrings voraus. Daher unterbleibt die Formierung eines Desmogenbündels an diesen Stellen, und es fehlt aus denselben Gründen die Anlage von Sklerenchymfasern über den Siebröhren. Die Stärke-

[1] Man kann so unterteilen: Blatteigene = Hauptbündel, stammeigene Bündel = Zwischenbündel erster Ausfertigung (I. Ordnung) und zweiter Ausfertigung (II. Ordnung).

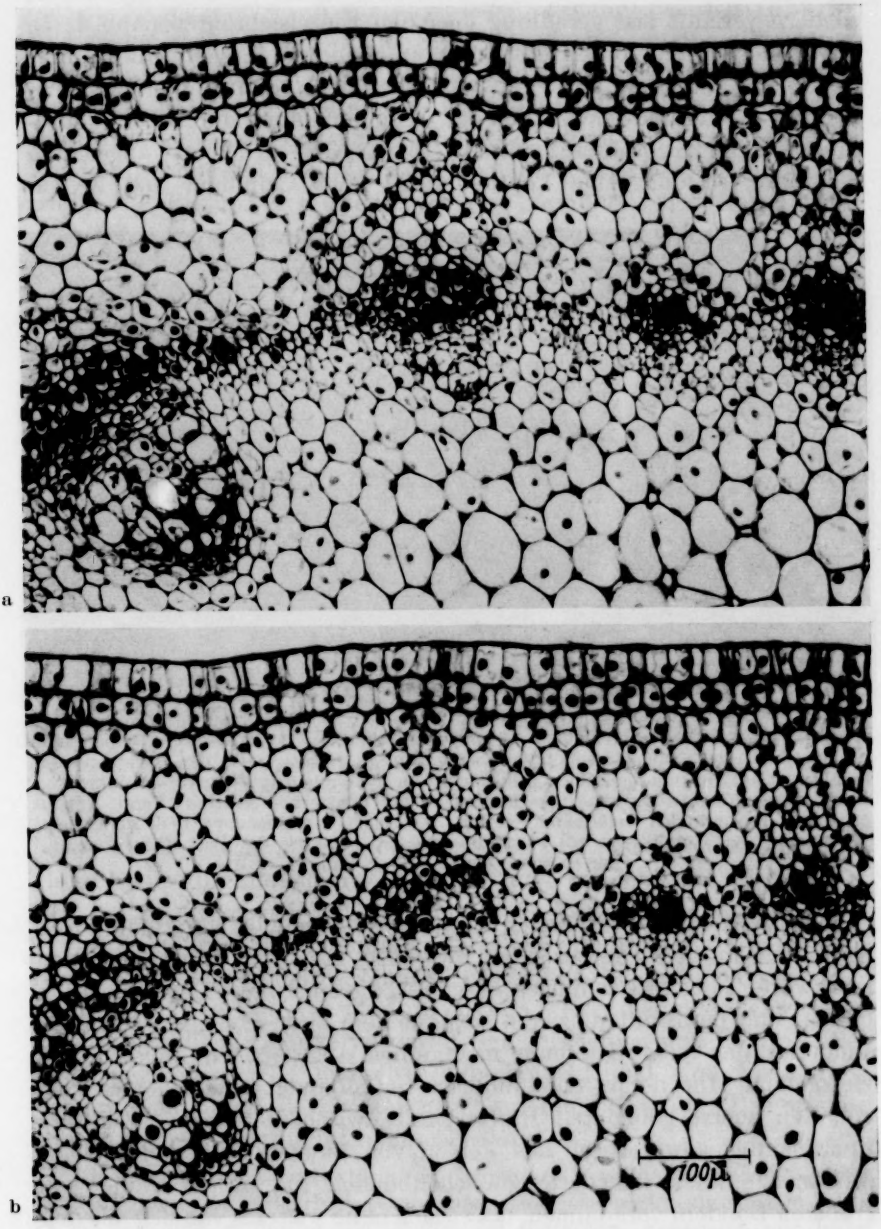


Abb. 5a u. b. *Vicia faba*, Stengelquerschnitte, Paraffintechnik, Methylgrün-Pyronin. Gefäßbündel erster bis dritter Ordnung und ein Leptombündel. Der Meristemringbereich zwischen den Bündeln noch deutlich erkennbar. a Kontrolle, b mit Ribonuclease behandelter Schnitt. Die RNS ist vor allem in den Geleit- und Parenchymzellen gehäuft anzutreffen, in etwas geringerem Maße auch in den Holzparenchymzellen und im Meristemringbereich

scheide wird nicht wie bei normalen Bündeln in die Rinde vorgeschoben, sondern verläuft fast geradlinig über den Einzelsiebröhren (Abb. 1, 7). Die isolierten Siebröhren entstehen an mehreren Stellen eines Interfascicels — wiederum im Gegensatz zu den Siebprimanen der Zwischenbündel. Es kommt gelegentlich zur Gruppenbildung durch Differenzierung weiterer Siebröhren in unmittelbarer Nähe der zuerst angelegten Siebröhre, so daß reine Leptombündel ohne Cambium und Xylem

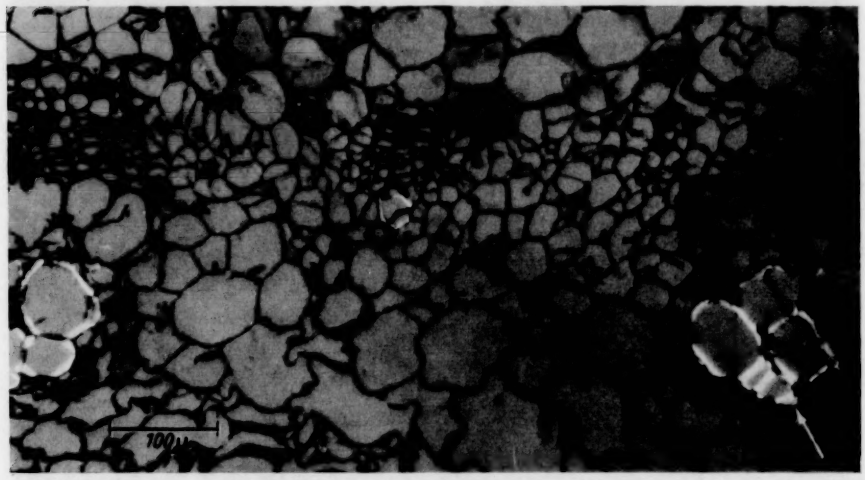


Abb. 6. *Vicia faba*, interfasciculäres Leptom. Mikrophoto mit dem Polarisationsmikroskop. Bei nicht ganz senkrecht stehenden Schwingungsebenen des Polarisators und des Analysators lassen sich Doppelbrechungserscheinungen gleichzeitig mit den histologischen Strukturen auf ein und demselben Bild darstellen. Nur mit dem Polarisationsmikroskop wird die gegenüber der Leptomgruppe liegende Metaxylemtrachee sichtbar. Vergl. Xylemprimanen der normalen Gefäßbündel (Pfeil). Zwischen Leptomgruppe und Metaxylemelement hat sich bereits ein Cambium formiert. Das ist die Entwicklungsart der sogenannten Ergänzungsbündel

gebildet werden. Diese können aber die fehlenden Bestandteile durch Induktion in den angrenzenden Geweben ergänzen. Zuerst werden markwärts Tangentialteilungen ausgelöst, die ein kleines Cambiumstück bilden, und dann differenzieren sich aus dem alten Halbmeristem oder auch aus den vom Cambium nach innen abgegebenen Zellen große Holzgefäße. Die derart entstandenen Gefäßbündel unterscheiden sich von den zuerst gebildeten Haupt- und Zwischenbündeln durch ihre Entwicklung, sowie durch das Fehlen von Sklerenchym und Xylemprimanen. Stark reduzierte Zwischenbündel, die in der Nähe von größeren Bündeln vorkommen, lassen sich ohne weiteres von den aus den Leptomsträngen entstehenden Bündeln unterscheiden. Die Siebröhren der Leptombündel sind nicht als Primanen anzusprechen, da sie sehr viel später als die Erstlinge der normalen Gefäßbündel entstehen. Um den Unterschied zu den aus Desmogensträngen entstandenen Haupt-

und Zwischenbündeln zu kennzeichnen, sollen die vom Leptom induzierten Stranggewebe „*Ergänzungsbündel*" genannt werden (Abb. 6).

Bei der weiteren Entwicklung der Sproßachse entsteht das interfasciculäre Cambium (Abb. 8). Die Induktion des Interfascicularcambiums beginnt beidseits vom Fascicularcambium im Bereich des alten Meristemringes, bis schließlich die Cambiumbrücke zwischen zwei Bündeln geschlossen ist. Wenn Leptombündel im Interfascicel stehen, erfolgt die Bildung des interfasciculären Cambiums dort selbständig,

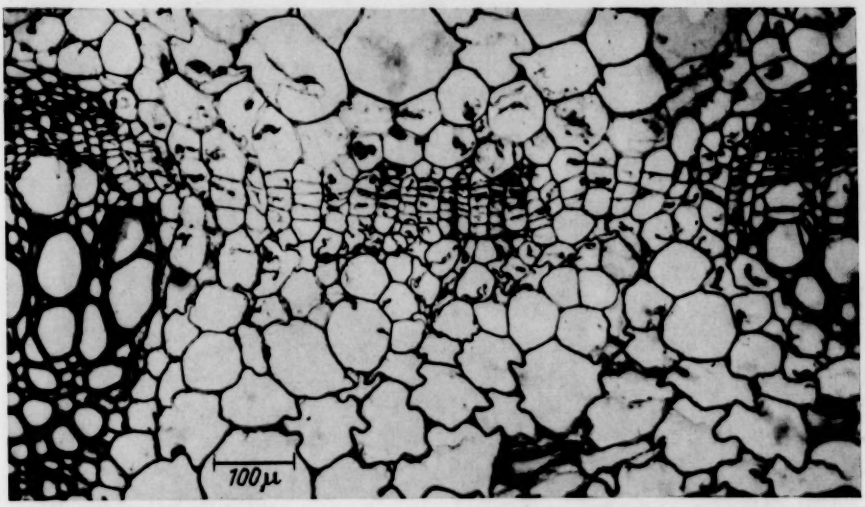


Abb. 7. *Vicia faba*, interfasciculäres Leptom. Das Interfascicular-Cambium teilt sich verstärkt im Bereich der isoliert stehenden Siebröhren

bevor die Teilungswelle, die vom fasciculären Cambium ausgeht, an dieser Stelle angekommen ist (Abb. 6). Auch bei der weiteren Entwicklung des interfasciculären Cambiums ist im Bereiche der Leptom- und Ergänzungsbündel der Vorsprung in der Meristemtätigkeit an den zahlreichen Teilungswänden erkennbar (Abb. 7). Die inneren Zellen des interfasciculären Bereichs sind inzwischen weiter herangewachsen und beginnen schließlich zu verholzen (Xylemparenchym und Fasern). Der Meristemring ist jetzt endgültig aufgebraucht und eine Neubildung kommt allein durch die Tätigkeit des Cambiums zustande. Das primäre Dickenwachstum ist damit abgeschlossen.

Die sekundäre Achsenstruktur. Die Neubildung von Bündelelementen erfolgt jetzt nur durch die Tätigkeit des Cambiums. Zunächst werden gleichartige Zellen an die vorhandenen Bündel und Interfascicel abgegeben. Fascicular- und Interfascicularcambium lassen sich noch deutlich unterscheiden. Die Bündelcambien verbreitern sich bei dem weiteren sekundären Dickenwachstum tangential, besonders diejenigen der Eckenbündel (Abb. 8, 9). Die interfasciculären Cambien bleiben dagegen gleich breit. Dadurch wird der Anteil der Gefäßelemente im

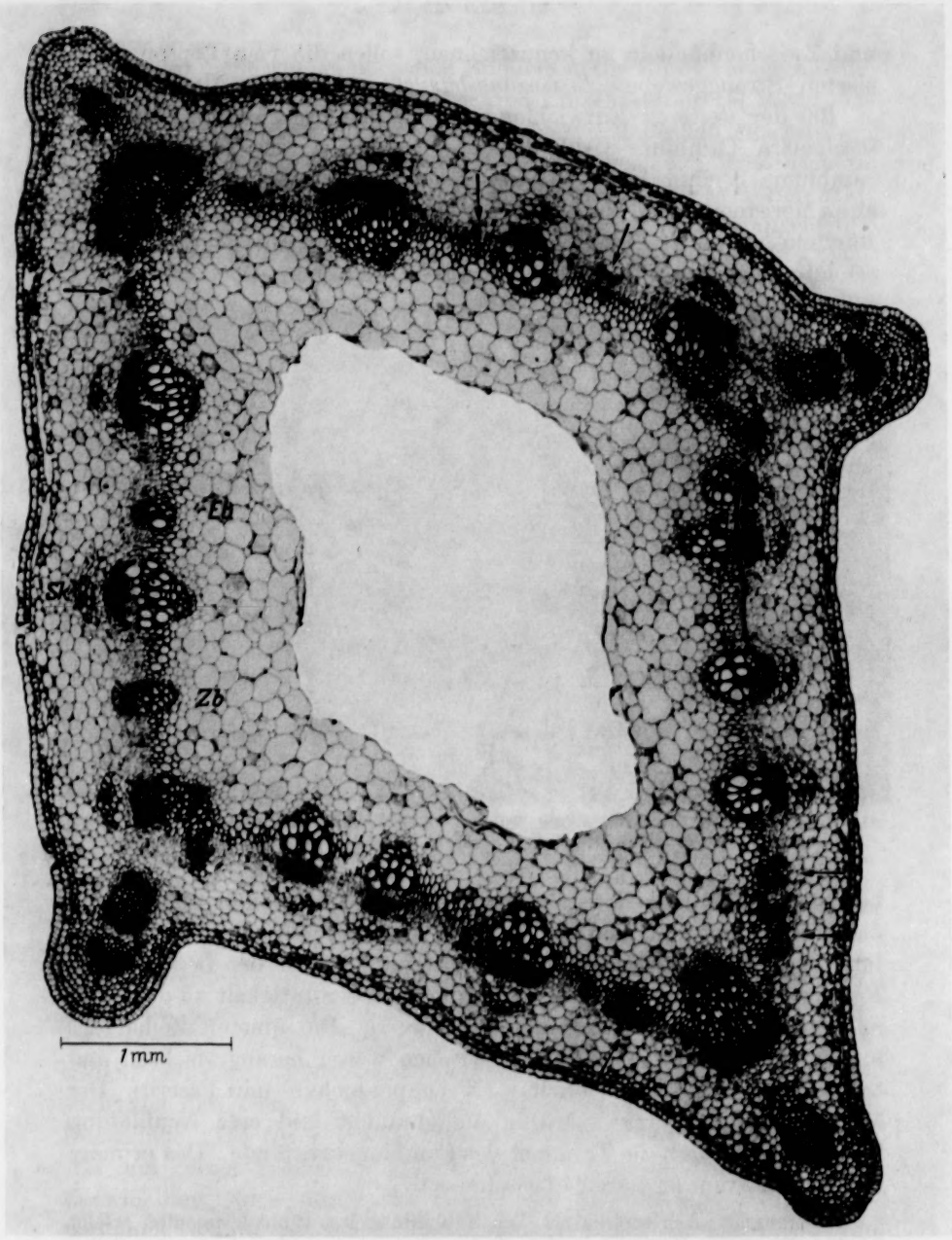


Abb. 8. *Vicia faba*, Querschnitt durch das 5. Internodium, Safranin-Fastgreen. (Die Sproßachse ist durch die Schrumpfung bei der Fixierung etwas verzerrt. Normale Querschnittsform siehe Abb. 1. Bildung eines Cambiumringes (ausgezogene Linie). Der Rest des Meristemringbereichs in den Interfasciceln beginnt zu verholzen (dunklere Zellen). Er liegt zwischen der gestrichelten und der ausgezogenen Linie. *Zb* Zwischenbündel II. Ordn., *Eb* Ergänzungsbündel, Pfeile Leptombündel oder Einzelsiebröhren ohne tracheale Elemente. *Sb* Sklerenchymbündel des medianen Blattspurstranges, *Sk* Sklerenchymkappe der stammeigenen Bündel

Sproßquerschnitt erhöht. Zuletzt entstehen auch im interfasciculären Bereich Gefäße, die ins interfasciculäre Xylem (Parenchym und Fasern) eingebettet sind *(sekundäre Zwischenbündel)*. Zwischen diesen und den primären Haupt-, Zwischen- und Ergänzungsbündeln bleiben dann noch wenige Zellen breite, verholzte Markstrahlen übrig. Es kann also auch das interfasciculäre Cambium neue Gefäße bzw. Gefäßbündel liefern. KOSTYTSCHEW (1924) meinte, daß dies nie der Fall wäre:

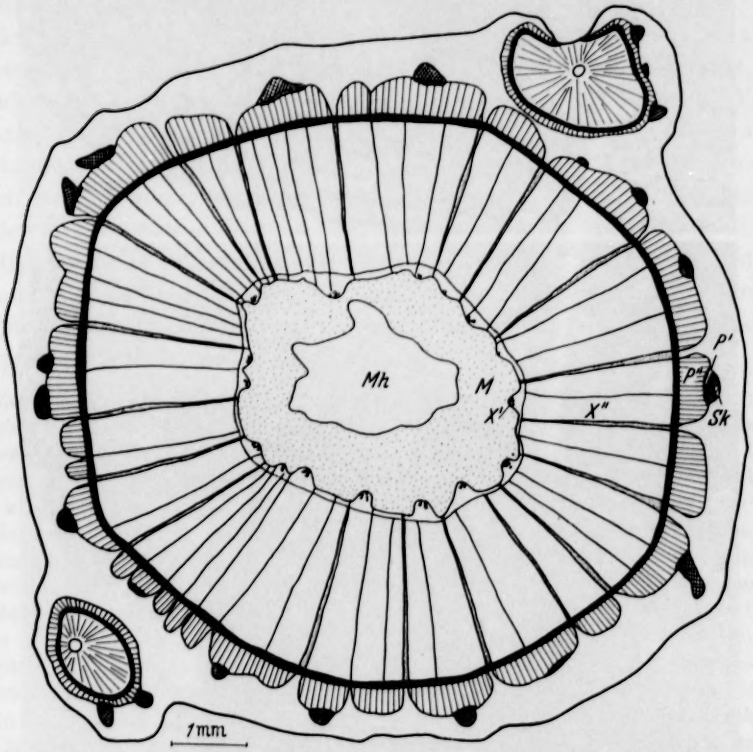
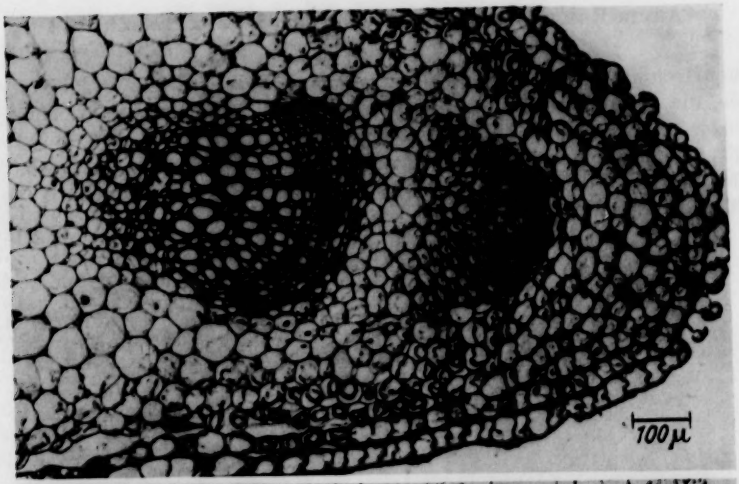


Abb. 9. *Vicia faba*, Querschnitt durch ausgewachsenes 5. Internodium. Mächtiger, durch Sekundärzuwachs hergestellter Holzzylinder mit Markstrahlen, wie bei einer holzigen Sproßachse. Der eine der lateralen Blattspurstränge ist in Abb. 10b wiedergegeben. Das Cambium fast ringförmig und die medianen Blattspurstränge nicht mehr so deutlich herausgehoben. *Mh* Markhöhle, *M* Mark, *X'*, *X''* primäres und sekundäres Xylem, *P'*, *P''* primäres und sekundäres Phloem, *Sk* Sklerenchym

„Das interfasciculäre Cambium kann keine Leitungsgewebe erzeugen" und „sind nämlich getrennte Procambiumbündel entstanden, so wird späterhin unter keinen Umständen ein kontinuierlicher Ring von Holz und Bast gebildet". Das trifft für die obersten 10—15 Internodien einer ausgewachsenen *Vicia*-Pflanze (mit insgesamt etwa 30 Internodien) zu. Die übrigen Sproßteile haben einen geschlossenen Leitzylinder wie ein holziges Gewächs. Die 10 untersten Internodien besitzen sogar einen ganz typisch ausgeprägten Holzkörper (mit umgebender sekundärer Rinde) von etwa 2 cm Durchmesser, wie ihn der Zweig eines Baumes oder Strauches erst nach Jahren besitzt.

Wenn der endgültige Zustand in den basalen Internodien erreicht ist, lassen sich die verschiedenen Gefäßbündelarten immer noch unter-



a

b

Abb. 10 a u. b. (Abbildungsunterschrift auf gegenüberliegender Seite)

scheiden. Die Haupt- und Zwischenbündel I. Ordnung reichen mit dem Xylemteil bis in das unverholzte Markgewebe. Ihre Sklerenchymkappe ist mächtig entwickelt und springt weit in die Rinde vor (die Eckenbündel und 3—4 Seitenbündel). Zwischenbündel II. Ordnung haben kleinere Sklerenchymkappen mit geringer Ausbuchtung der Stärkescheide. Den Ergänzungsbündeln fehlt die Sklerenchymkappe, die Stärkescheide verläuft geradlinig über sie hinweg. Sie reichen bis zum Inneren des interfasciculären Holzes oder auch darüber hinaus, je nachdem, ob sie nach oder vor dessen Verholzung entstanden sind. Vollkommen darin eingebettete Zwischenbündel sind sekundärer Natur und entstammen der Tätigkeit des interfasciculären Cambiums, das nach außen entsprechende Siebteile abgibt. Aber auch reine Leptombündel werden im sekundären Zustand vom interfasciculären Cambium gebildet, die diesem direkt anliegen. Leptombündel, die vom primären Wachstum stammen, sind der Stärkescheide zugeordnet (vgl. Abb. 7). Im ganzen ist natürlich beim sekundären Zustand kaum noch von Einzelbündeln zu sprechen (siehe oben).

Zum Schluß der Beobachtung über das sekundäre Dickenwachstum ist noch auf den eigenartigen Bau der sekundär verdickten, lateralen Blattbündel hinzuweisen. Zunächst ist verwunderlich, daß sie sich weiterentwickeln, da die zugehörigen Blätter und Nebenblätter der unteren Internodien sehr bald vertrocknen und abfallen. Anscheinend erhalten diese Bündel durch Anastomosen Anschluß an das stammeigene Bündelnetz und damit bekommt ihre weitere Entwicklung Bedeutung für die Festigkeit und Leitfähigkeit der Sproßachse. Ihre sekundäre Entwicklung verläuft anomal. Um den primären Holzteil entsteht im angrenzenden Rindenparenchym ein Folgemeristem-Cambium, das mit dem fasciculären Cambium dieses Bündels einen Ring bildet, der den ganzen Holzteil dieses Bündels umgibt. Aus diesem Cambiumring entwickelt sich dann ein hadrozentrisches, sekundäres Bündel von solcher Mächtigkeit, daß man den primären Holzteil in der Mitte des mächtigen, jetzt konzentrischen Sekundärxylems kaum noch finden kann. Die primären Phloemteile sind abgestorben und zerdrückt und werden von sekundären, die aus dem Cambium hervorgehen, abgelöst. Die Sklerenchymkappe wird tangential zerrissen und sitzt in einzelnen Portionen dem ringförmigen sekundären Phloemteil auf (Abb. 9, 10). So haben wir das eigenartige Phänomen, daß sich die rindenständigen Lateralbündel beim sekundären Dickenwachstum wie selbständige Zentralzylinder verhalten, genau so wie sie im primären Zustand außerhalb der Stärkescheide des Bündelrings liegend mit eigener Scheide versehen waren.

Die isolierten Siebröhren (Interfasciculäres Leptom). Die isolierten Siebröhren entstehen in der äußeren Schicht des interfasciculär gelegenen, vom Meristemring ableitbaren Gewebestreifens (Pericambium). Bei der Entwicklung der interfasciculären Siebröhren wird eine der Pericambiumzellen nach einer oder mehreren Längsteilungen (antiklinen oder periklinen) zur Siebröhrenmutterzelle, die dann die Geleitzelle abtrennt (GROOVE 1955).

Abb. 10a u. b. *Vicia faba*, Sproßachse. Entwicklung eines lateralen Blattspurstranges. a Primärer Zustand bei Beginn der Cambiuminduktion um das Xylem herum. b Sekundärer Zustand mit konzentrischer Anordnung. (Epidermis und äußere Rinde gesprengt, daher der Siebteil nicht ganz geschlossen.) Unten die in drei Teile zersprengte Sklerenchymkappe. Safranin-Fastgreen

Prüft man die Siebröhrenentwicklung an Karminquetschpräparaten, so ist eine Entscheidung über fasciculäre oder interfasciculäre Herkunft der Leptomzellen nicht mehr zu treffen. Es ist aber anzunehmen, daß die Siebröhren und Geleitzellen, die eine parenchymatische Zelle dabei haben (RESCH 1958), aus *einer* gemeinsamen Pericambiumzelle hervorgegangen sind. Dafür spricht, daß die Parenchym-Nebenzellen vor allem im primären Phloem gefunden wurden.

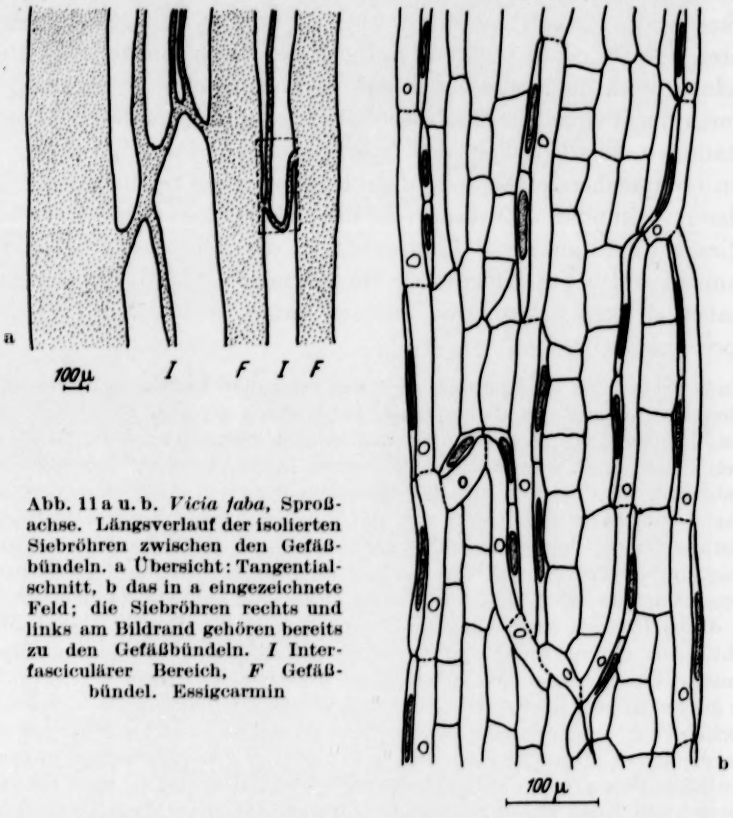


Abb. 11 a u. b. *Vicia faba*, Sproßachse. Längsverlauf der isolierten Siebröhren zwischen den Gefäßbündeln. a Übersicht: Tangentialschnitt, b das in a eingezeichnete Feld; die Siebröhren rechts und links am Bildrand gehören bereits zu den Gefäßbündeln. *I* Interfasciculärer Bereich, *F* Gefäßbündel. Essigcarmin

Betrachten wir die isolierten Siebröhren im Längsschnitt, so finden wir, daß sie zwar über große Strecken den Bündeln parallel laufen, aber häufig Anastomosen mit diesen und untereinander bilden oder in die Bündel einmünden, ohne sich weiter fortzusetzen (Abb. 11). Die Anordnung im Gewebe entspricht auffällig derjenigen der Wundsiebröhren, wie sie bei *Impatiens* gefunden wurden (KAAN-ALBEST 1934, ESCHRICH 1953). Die achsenparallel verlaufenden Siebröhrenglieder gleichen mehr oder weniger den Bündelsiebröhren. Die Querverbindungen jedoch zeigen auffallend kurze, ja gebogene Siebröhrenglieder. Sie finden über eine laterale Siebplatte Anschluß an senkrecht verlaufende Siebröhren (in Abb. 11 b links). So erscheint es notwendig,

auch bei den Macerationsmethoden künftig eine Unterscheidungsmöglichkeit von interfasciculären und fasciculären Siebröhren zu finden.

Anastomosierende Einzelsiebröhren sind besonders in der Nähe der an den Ecken liegenden Blattspurstränge zu finden. So kann wohl angenommen werden, daß sie eine Rolle bei der Verteilung der einströmenden Blattassimilate spielen. Auch liegt die Vermutung nahe, daß die isolierten Siebröhren, die nicht wie die Bündelsiebröhren durch die Sklerenchymkappe nach außen abgeriegelt sind, bei der Ableitung der Rindenassimilate beteiligt sind. Daher wurde versucht, mit Tetrazoliumchlorid eine besondere Aktivität der Geleitzellen der Einzelsiebröhren nachzuweisen. Bauer (1953) gelang dies bei den Geleit- und Übergangszellen des *Vicia*-Blattes, und die positive Reaktion wurde neben anderen Indizien als Beweis für die Phosphataseaktivität dieser Zellen bei der Abführung der Assimilate angesehen. Wir haben Tangentialschnitte in der gleichen Weise behandelt. Die Reaktion (Ausfällung von Chromazan) war in allen Geleitzellen positiv, ohne nennenswerten Unterschied zwischen den Bündelgeleitzellen und denen der isolierten Siebröhren. Die Farbreaktion ist aber ein gutes Hilfsmittel zur Demonstration der isolierten Siebröhren bzw. Geleitzellen und sei daher erwähnt und abgebildet (Abb. 12).

Entwicklung und Anordnung des Sklerenchyms. Die Zellen der Sklerenchymkappen werden schon frühzeitig, nämlich mit *Beginn* des Streckungswachstums, aus den äußeren Teilen der Initialbündel gebildet. Sie verbleiben dann während des Streckungswachstums embryonal und werden durch weitere Längsteilungen einer meristematischen Schicht, die zwischen Protophloem und den zuerst entstandenen prospektiven Fasern liegt, ergänzt. Diese Ergänzungsschicht ist großzellig und dünnwandig und hebt sich deutlich von den — im Querschnitt englumigen — erstgebildeten Zellen der peripheren Sklerenchymschichten ab (Abb. 5, 8). Letztere entstammen direkt den Desmogenzellen des Meristemringes und sind später die Primanen des Sklerenchyms.

Als Bildungsort der Skerenchymfasern primärer Gefäßbündel wird das Protophloem angegeben (Esau 1953, dort auch Literatur). Es behält in einem Teil seiner Zellen meristematische Eigenschaften, da nur vereinzelt Siebprimanen und Geleitzellen gebildet werden. Bei der Differenzierung des Sklerenchyms entwickeln sich die restlichen Zellen des Protophloems zu Fasern, die Phloemelemente kollabieren und werden zur Unkenntlichkeit zerdrückt und resorbiert. Dieser Gewebeteil des Gefäßbündels erfährt einen Funktionswechsel von Leitungsbahnen zu Festigungselementen. So ist es von Esau (1943) bei *Linum usitatissimum* beschrieben worden, und weitere Beispiele sind bekannt, auch im Hypokotyl von *Cucurbita* (siehe II. Teil). Die Siebprimanen von *Vicia faba* dagegen entstehen einwärts vom prospektiven Sklerenchym, von diesem durch eine meristematische Ergänzungsschicht (Pericambium) getrennt. Somit kann das Sklerenchym der Bündel als Perizykelsklerenchym (Guttenberg 1943) bezeichnet werden, auch wenn es in diesem Falle nicht ringförmig angelegt ist, wie z. B. bei *Aristolochia* und *Cucurbita* oder bei Wurzeln.

Die Sklerenchymteile der Medianbündel liegen in größerer Entfernung vom Protophloem als die der Stengel- oder Lateralbündel. Sie sind im Querschnitt

nicht kappenförmig, sondern abgerundet (Abb. 8, 10a)[1]. Diese Sklerenchymbündel entstehen ebenfalls aus dem Meristemring. Das Pericambium teilt sich an diesen Stellen sehr viel häufiger und treibt so den Sklerenchymteil weit in die Rinde vor und liefert außerdem ein großzelliges, parenchymatisches Zwischengewebe, das die Verbindung zum Leptom des Bündels herstellt. Trotz gleichen Ursprungs erscheint damit der Sklerenchymteil der Medianbündel weit abgesetzt und isoliert von den leitenden Elementen des Bündels. Der Vorteil der peripheren Lage der Festigungselemente für die Stabilität der Sproßachse liegt auf der Hand.

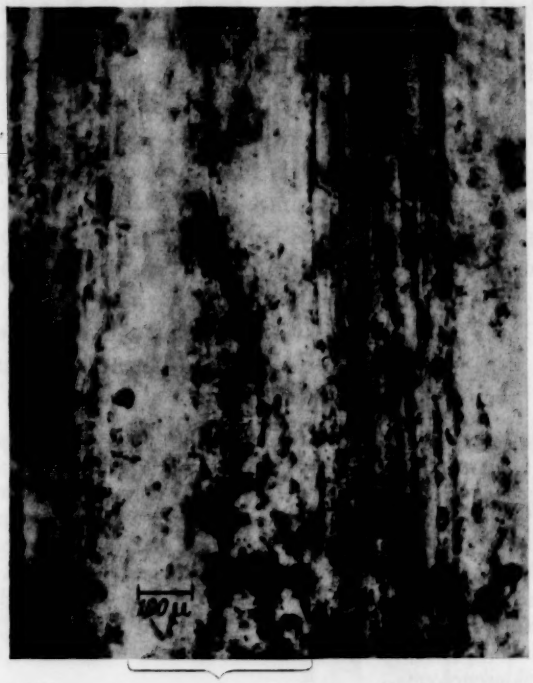
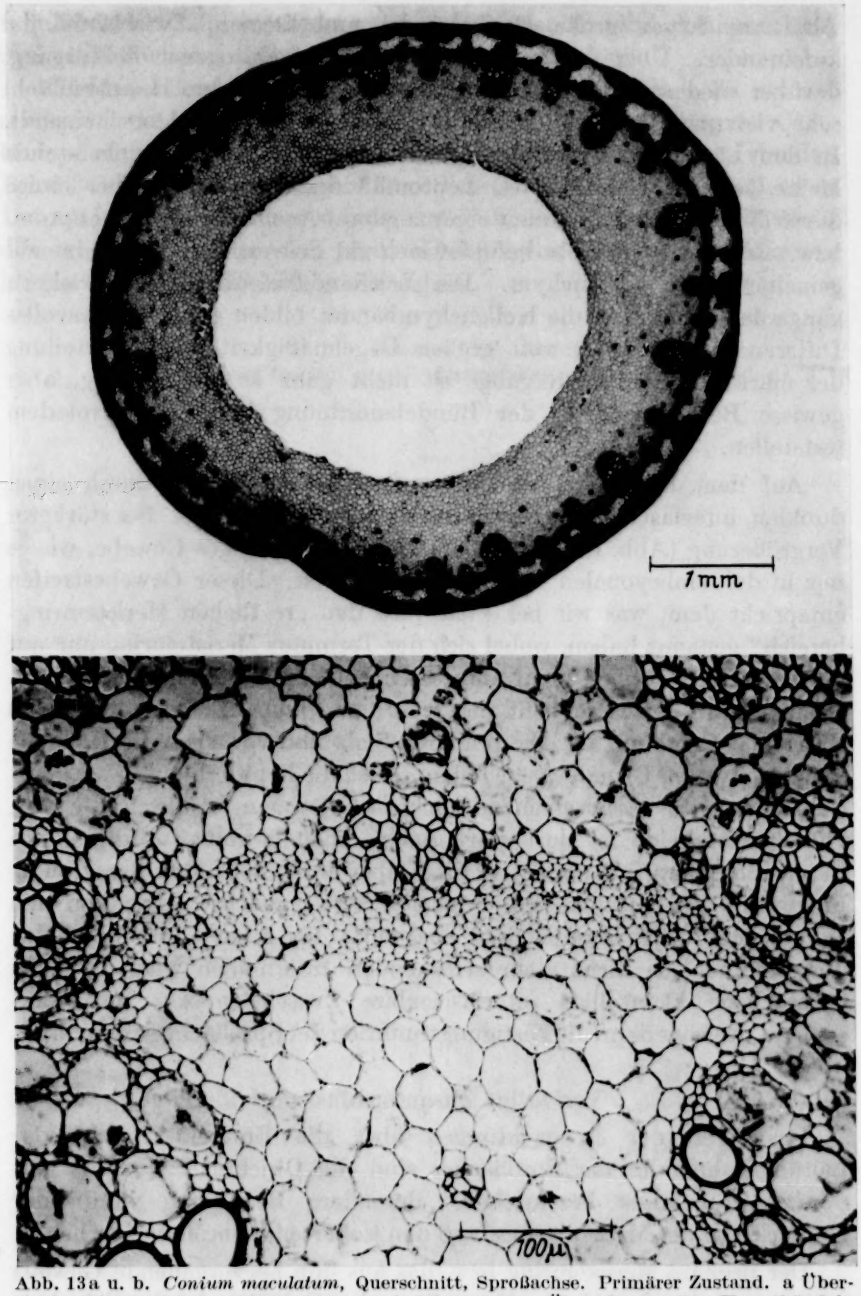


Abb. 12. *Vicia faba*, Sproßachse. Tangentialschnitt von Frischmaterial, behandelt mit Tetrazoliumchlorid. Farbkristallausfällung in den Geleitzellen der interfasciculären und fasciculären Siebröhren. *Gb* Gefäßbündel, *I* Interfasciculärer Bereich

II. Conium maculatum

Die Entwicklung und Struktur der Sproßachse von *Conium maculatum* zeigt zwei Parallelen zu *Vicia faba*. Erstens entstehen auch bei *Conium* Zwischen-, Ergänzungs- und Leptombündel, und zweitens wird der Rest des Meristemringes, der nicht zur Bündelbildung schreitet, in interfasciculäres Xylemsklerenchym umgewandelt. Die primäre Sproßachse zeigt folgenden, eigentümlichen Bau (Abb. 13). In regelmäßiger

[1] In den Epikotylen und unteren Internodien, an denen nur Niederblätter (Schuppenblätter ohne Spreite) sitzen, besteht das Medianbündel auch im ausgewachsenen Zustand nur aus Sklerenchym ohne Leitungselemente, deren Ausbildung mangels Induktion durch das Oberblatt ausbleibt.



a

b

Abb. 13a u. b. *Conium maculatum*, Querschnitt, Sproßachse. Primärer Zustand. a Übersicht. Die Punkte im Markgewebe sind Sekretgänge. Über den großen Hauptbündeln breite, schwarz erscheinende Kollenchymbänder. Dazwischen Sekretgänge (mit weißem Punkt). Zwischen den Gefäßbündeln der kleinzellige interfasciculäre Gewebestreifen. b Ausschnitt davon: links Hauptbündel, rechts Zwischenbündel. In der Mitte Leptombündel mit Sekretgang. Safranin-Fastgreen

Alternanz folgen große Hauptbündel und kleinere Zwischenbündel aufeinander. Über jedem Bündel liegt ein schizogener Sekretgang, darüber wiederum ein Kollenchymstrang, der über den Hauptbündeln sehr viel mächtiger entwickelt ist (im Präparat dunkel erscheinend). In den Lücken zwischen den großen und mittleren Bündeln stehen kleine laterale Gefäßbündel, Leptombündel, von denen aber einige durch Xylem zu kollateralen ergänzt sind. Auch über diesen Leptom- bzw. Ergänzungsbündeln befindet sich ein Sekretgang, jedoch im allgemeinen kein Kollenchym. Die Leitbündelanordnung, die Sekretgänge der Rinde und die Kollenchymbänder bilden ein eindrucksvolles Differenzierungsmuster von großer Regelmäßigkeit. Die Verteilung der markständigen Sekretgänge ist nicht ganz so gesetzmäßig, aber gewisse Beziehungen zu der Bündelanordnung lassen sich trotzdem feststellen.

Auf dem Übersichtsbild fällt auf, daß alle Bündel durch einen dunklen, interfasciculären Gewebestreifen verbunden sind. Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 13b) erkennen wir ein kleinzelliges Gewebe, wie es nur in den embryonalen Teilen anzutreffen ist. Dieser Gewebestreifen entspricht dem, was wir bei *Vicia faba* den „restlichen Meristemringbereich" genannt haben, wobei sich der Terminus Meristemring nur auf die Lage des Gewebes, nicht auf dessen Zellform bezog. Der Meristemstreifen von *Conium* schließt sich rechts und links an das großzelligere Fascicular-Cambium an. Die primären Sieb- und vor allem die Holzteile ragen weit in das Grundgewebe hinein. Auch die Leptombündel — Einzelsiebröhren gibt es anscheinend nicht — springen in die Rinde vor. Die Stärkescheide ist dort stark nach außen gewölbt, obwohl keine Sklerenchymkappen gebildet werden (aber auch nicht über den Hauptbündeln!). Die mechanische Funktion wird zunächst allein von den zahlreichen Kollenchymbändern ausgeübt. Bei älteren, sekundär verdickten und sich nicht mehr streckenden Internodien wird das eben besprochene kleinzellige interfasciculäre Zwischengewebe zu Sklerenchym, welches dann die Festigungsfunktion der Sproßachse übernimmt.

Vorläufige Zusammenfassung[1]

Im I. Teil der Beobachtungen über die Entstehungsweise der Leitungsbahnen in der Sproßachse sind die Objekte *Vicia faba* und *Conium maculatum* beschrieben. Besondere Beachtung wurde der Entwicklung des Meristemrings und den isolierten Siebröhren geschenkt.

Der primäre Meristemring bzw. das aus ihm hervorgehende Gewebe besitzt noch lange nach der Herstellung der Gefäßbündel die Fähigkeit zur Neubildung. So gehen aus ihm die isolierten Siebröhren, die Sieb-

[1] Diskussion und Literatur folgen am Ende des II. Teiles dieser Arbeit.

röhrenbündel (Leptombündel), das interfasciculäre Xylemsklerenchym und schließlich das interfasciculäre Cambium hervor.

Eine besondere Rolle spielen hierbei die Leptombündel. Sie können als unvollständige (laterale) Bündel verbleiben, bilden aber ein Cambium, noch bevor die Induktion des interfasciculären Cambiums von den Bündelcambien aus erfolgt. Die Siebröhrenbündel sind außerdem Induktionsorte neuer, vollständiger Gefäßbündel (Ergänzungsbündel), denen aber das Protoxylem fehlt, worin sie von der üblichen Entwicklungsart eines Gefäßbündels abweichen.

Dozent Dr. A. Resch,
Botanisches Institut der Universität Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9

Planta, Bd. 52, S. 490—515 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

ÜBER LEPTOMBÜNDEL UND ISOLIERTE SIEBRÖHREN SOWIE DEREN KORRELATIONEN ZU DEN ÜBRIGEN LEITUNGSBAHNEN IN DER SPROSSACHSE*

II. Teil

Von

ARMIN RESCH

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Oktober 1958)

A. Einleitung

Im vorangehenden Teil I dieser Veröffentlichung wurde mit der Darstellung der Histogenese bei den Sproßachsen von *Vicia faba* und *Conium maculatum* begonnen. Es interessierte uns die Entstehungsweise aller Leitungsbahnen während der gesamten Ontogenese. Die Entwicklung des Meristemringes (HELM 1932) zu Gefäßbündeln und Zwischenbereichen und wiederum die erneute Induktion von Gefäßbündeln in diesen Zwischenbereichen (Zwischenbündel I. und II. Ordnung) nahm dabei den größten Raum ein. Während diese Zwischenbündel die übliche Entwicklungsweise mit gleichzeitig entstehenden Sieb- und Holzprimanen zeigen, ließen sich noch andere Gefäßbündel nachweisen, die zuerst nur Siebteil (Proto- und Metaphloem) entwickeln. Erst beim Übergang zum sekundären Dickenwachstum ergänzen sich diese lateralen Bündel zu collateralen Bündeln, indem auf der Innenseite *zuerst* Cambium und *dann* Metaxylem ergänzt werden *(Ergänzungsbündel)*. Außerdem entstehen in den ehemaligen Meristemring-Streifen einzelne oder gruppenweise vereinigte Siebröhren mit Geleitzellen und Siebparenchym. Ihnen fehlt wie den Ergänzungsbündeln die sonst übliche Sklerenchymkappe und wir nannten sie daher *Leptombündel*. In den hier folgenden Beobachtungen wird hauptsächlich eine andere Gruppe von Siebröhren geschildert werden. Das an und für sich bekannte Objekt *Aristolochia sipho* dient zur Verdeutlichung bestimmter histogenetischer Vorgänge bei der Entwicklung des Meristemringes und leitet über zu den Beobachtungen an Sproßachsen und Hypokotylen einiger Kürbisrassen, deren Klassifizierung bereits im I. Teil vorgenommen wurde. Bei

* Dieser II. Teil gehört ebenfalls zur Habilitationsschrift der naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.— Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. F. OEHLKERS, möchte ich auch an dieser Stelle, ebenso wie der Deutschen Forschungsgemeinschaft, für die großzügig gewährte Unterstützung und Hilfe sehr herzlich danken.

Cucurbita maxima und *Cucurbita pepo* interessieren besonders die rindenständigen ento- und ektocyclischen Siebröhren. Aber auch die vorhin erwähnten interfasciculären Siebbündel und Leptombündel sind dort vorhanden.

Aus diesen Objekten ergeben sich bereits eine Reihe von Schlußfolgerungen über die entwicklungsgeschichtliche und entwicklungsphysiologische Stellung des Meristemringes und zur Frage nach der Induktionsweise des interfasciculären Cambiums. Darüber hinaus soll aber für physiologische Untersuchungen eine Grundlage geschaffen werden, welche Möglichkeiten bei Experimenten zur Siebröhrenphysiologie bestehen. Gleichzeitig muß bei solchen Untersuchungen auch beachtet werden, welch kompliziertes System diese Leitungsbahnen darstellen.

B. Beobachtungen[1]

I. Aristolochia sipho

Die Entwicklung des Meristemringes von *Aristolochia sipho* ist durch HELM (1932) schon ausführlich beschrieben worden. Die Entstehung des Sklerenchymringes hat er jedoch nicht untersucht. Dieser liegt im fertigen Zustand, wie es scheint, in der Rinde. Da er sich aber noch innerhalb der Stärkescheide befindet, gehört er zum Leitbündelgewebe. Auch die Entwicklungsgeschichte beweist dies, und darauf soll kurz eingegangen werden.

Der Meristemring von *Aristolochia* bildet Einzelbündel. Die Absonderung, d. h. die Formierung der Desmogenbündel durch Längsteilungen der Meristemringzellen erfolgt hauptsächlich auf der inneren Seite des Ringes (Xylemwärts! Das läßt sich auch auf der Abb. 5, S. 120 in der Arbeit von HELM 1932 erkennen). In den folgenden Stadien ist die in das Mark vorspringende Lage der Gefäßbündel noch deutlicher, und die interfasciculären Bereiche verlieren tatsächlich, wie HELM schreibt, ihren meristematischen Charakter. Aber die Zwischenbereiche sind hier nicht allein die ehemalige „Ringzone", sondern vom Urmark abstammende Zellen. Das kleinzellige Gewebe, das wir bei den vorigen Objekten kennengelernt haben, verläuft bei *Aristolochia* über den Gefäßbündeln und stellt den prospektiven Sklerenchymring dar (Abb. 1). Der Meristemring wandelt sich also doch, aber nur in seinen sklerenchymbildenden Schichten, in einen Desmogenring um. Durch die Vergrößerung und Parenchymatisierung der Zellen zwischen prospektivem Sklerenchymring und Protophloem rückt der mechanische Gewebering rindenwärts von den Gefäßbündeln ab. Die dazwischenliegende parenchymatische Schicht ist aber ebenfalls aus dem Meristemring hervorgegangen. In den Interfasciceln können sich kleine Leptombündel bilden. Der Unterschied zu der Differenzierungsweise des Meristemringes bei *Conium*

[1] Material und Methode ist im I. Teil im gesamten geschildert und wir dürfen darauf verweisen.

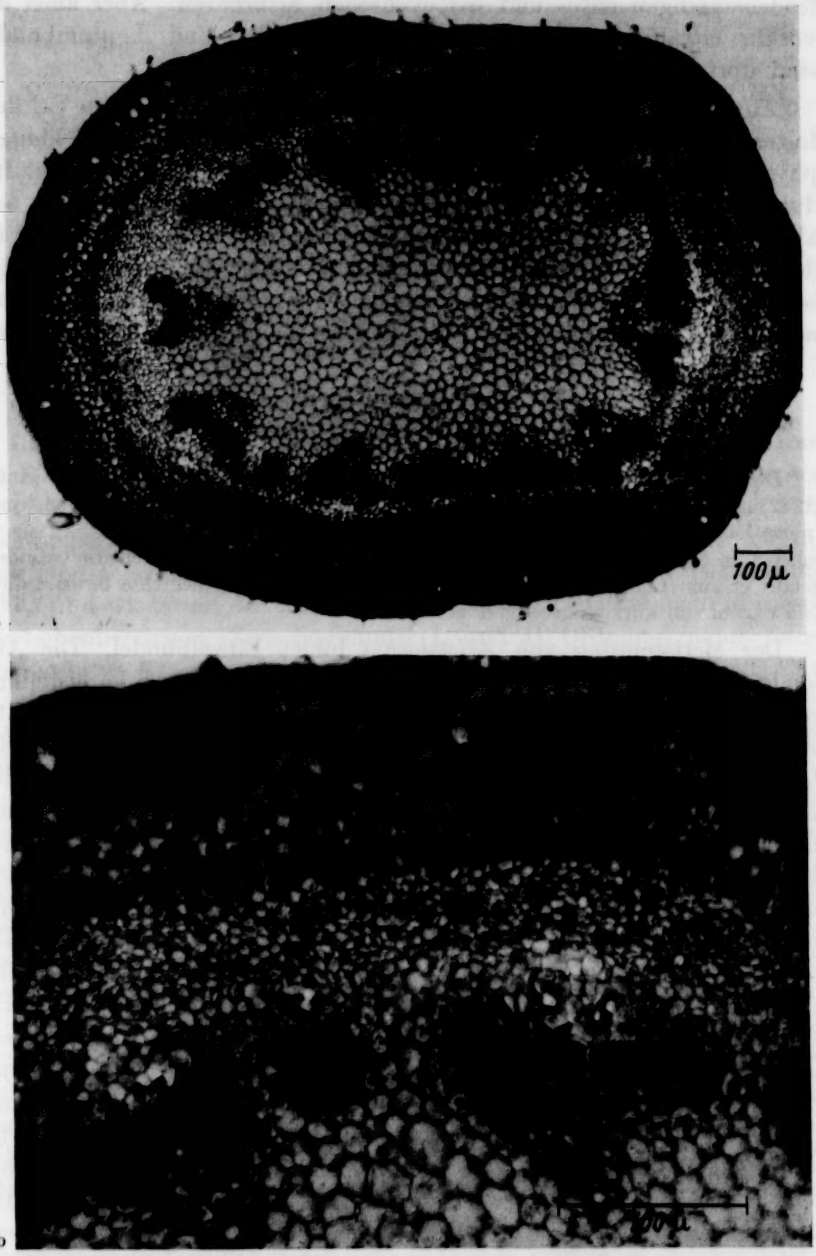


Abb. 1 a u. b. *Aristolochia sipho*, junge Sproßachse im Querschnitt. a Übersicht, b Detail. Die Gefäßbündel sind Vorsprünge des Meristemringes nach innen, der sich außen zum prospektiven Sklerenchymring umwandelt. Nach der fertigen Umwandlung ist dieser durch mehrere Zell-Lagen von den Gefäßbündeln getrennt

und *Vicia* tritt damit ganz deutlich hervor. Dort entstehen die Phloembündel auf der Außenseite des Meristemringes, und das interfasciculäre Sklerenchym bildet sich aus den inneren Teilen des Halbmeristems. Da die Anlage des vollständigen Cambiumringes in dem nicht verbrauchten Teil des Meristemringes erfolgt, kommt das ringförmige Festigungsgewebe bei *Aristolochia* außerhalb, bei *Conium* und *Vicia* innerhalb des sekundären Zuwachses zu liegen. Das bedeutet, daß es bei letzteren

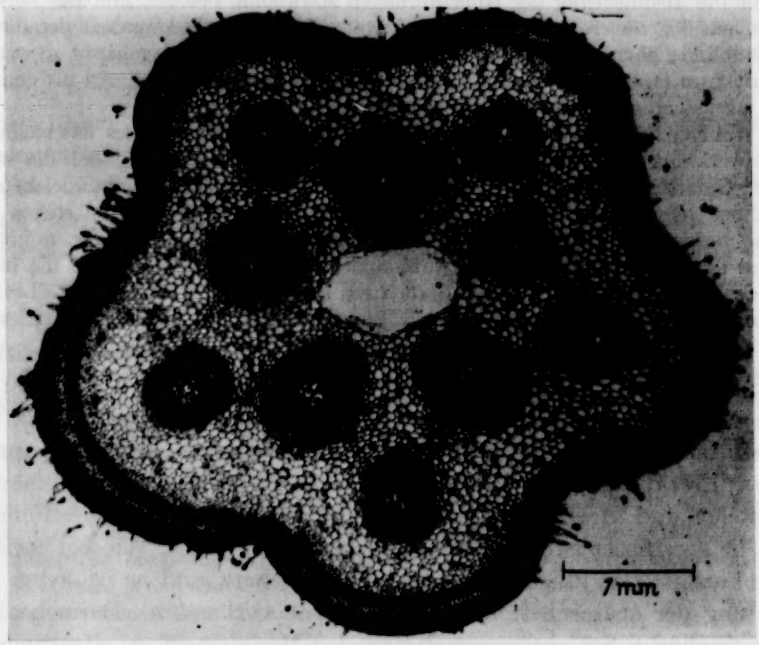


Abb. 2. *Cucurbita pepo var. melanosperma*, Sproßachse. Ein kleinzelliger Gewebestreifen verbindet die Gefäßbündel des äußeren und inneren Kreises, wodurch die Herkunft aus *einem* Meristemring erkennbar ist

Objekten bis zum Ende der Sproßentwicklung unverändert liegen bleibt, bei *Aristolochia* in der bekannten Weise durch das Dilatationswachstum gesprengt wird.

IIa. Cucurbita pepo (Sproßachse)

Allgemeines. Wir beginnen wieder mit einer kurzen Charakterisierung des primären Baues der Sproßachse. Im Querschnitt sind zwei Bündelringe von meist je 5 bikollateralen, offenen Gefäßbündeln zu sehen (Abb. 2). Im äußeren Bündelring liegen die Gefäßbündel auf den Radien, die durch die Ecken des gerippten, stumpf-fünfkantigen Stengels gehen. Alternierend mit diesen Bündeln liegen die fünf Bündel des inneren Kreises, die bedeutend größer sind und weit in das Mark hineinragen. Beide Bündelringe sind von einem mehrschichtigen, sklerenchymatischen Versteifungsring umgeben, der in einigem Abstand von den äußeren Bündeln verläuft und entsprechend den Stengelumrissen gebuchtet erscheint. Außerhalb

des Sklerenchymringes folgt eine einzellige Schicht, die als Stärkescheide (Endodermis) funktioniert. Das Rindengewebe zeigt Eckencollenchym, welches speziell die Stengelkanten versteift und in den übrigen Teilen von Assimilationsgewebe, d. h. grünem Rindengewebe, abgelöst wird.

Wird die Endodermis bzw. Stärkescheide als innerste Schicht der Rinde angesehen, dann liegen die Gefäßbündel des äußeren und vor allem des inneren Ringes nicht wie üblich der Rinde direkt an, sondern weiter einwärts im Grundgewebe, beinahe im Mark selbst, wie bei *Aristolochia*. Die Abgrenzung der Markstrahlen fällt hier sehr schwer, denn die Bezirke zwischen den inneren Gefäßbündeln sind durch die Ausbuchtung der rippenförmigen Markhöhle besetzt, und die Bereiche zwischen den äußeren Gefäßbündeln können durch die Anwesenheit der inneren Gefäßbündel ebenfalls keinen Anspruch erheben, Markstrahlen genannt zu werden. Von SANIO (1864) und WEISS (1883) werden die Kürbisgefäßbündel als endogen (= markständig) bezeichnet.

Weniger beachtet wird bei der Betrachtung des Kürbissprosses das vielfältige Netzwerk einzelner Siebröhrenbündelchen außerhalb der Gefäßbündel, die wir in ihrer Gesamtheit als extrafasciculäre Siebröhren oder Siebröhrenbündelchen bezeichnen; diejenigen dieser Bündel, die zwischen den Gefäßbündeln stehen oder diese verbinden, werden im folgenden interfasciculäre Siebröhren, die am inneren Rand des Sklerenchymringes gehäuft auftretenden entocyclische und die in der Rinde stehenden ektocyclische Siebröhren genannt (FISCHER 1884). Letztere können sowohl in der Assimilationsrinde als auch in der Collenchymrinde verlaufen.

Die Determinierung des Leitgewebes. In der jungen, undifferenzierten Sproßachse ist auch bei *Cucurbita* nur eine Meristemringzone zu erkennen, die eine kleinzellige Schicht zwischen prospektivem Mark und Rinde darstellt und eine eindeutige histogenetische Gliederung ermöglicht. Erst die Art und Weise, wie und an welchen Stellen Desmogene entstehen und zu welchen Elementen sie sich entwickeln, ist bestimmend für die spezifische Struktur des erwachsenen Sprosses. Wie bei anderen Objekten ist der junge Sproß zylindrisch gebaut und es ist keine Andeutung der späteren fünfkantigen Gestalt vorhanden. Dann beginnt eine ungleiche Schichtenvermehrung des Meristemringes, die zunächst die späteren Bündel des äußeren Ringes formiert, also 5 Desmogenbündel entstehen läßt. In diesen beginnt die Primanenentwicklung, bei der die Siebröhren (des äußeren Phloems) wieder deutlich voraus sind (FABER 1904). Die Desmogenbildung beult den Meristemring an den späteren Ecken aus und gibt dem gesamten Sproßquerschnitt die ersten Anzeichen der späteren Gestalt. Zwischen den äußeren Bündeln formieren sich die zunächst kleinen inneren Bündel aus dem Meristemring, deren Primanenentwicklung später einsetzt. Der verbliebene Meristemring verliert seine meristematische Beschaffenheit bis auf seine äußeren Schichten, die sich lebhaft teilen, dabei die Streckung des jungen Sproßstückes mitmachend. So entsteht wie bei *Aristolochia* über den Gefäßbündeln ein 3—5 Zellen breiter Ring (Hohlzylinder) von prosenchymatischen Zellen, der prospektive Sklerenchymring. Da er aus der äußeren Schicht des Meristemringes hervorgeht, die wir schon als Pericambium kennengelernt haben, ist seine ausdifferenzierte Form als Perizykelsklerenchym anzusprechen.

Die Entstehung beider Bündelringe aus einem gemeinsamen Meristemring läßt sich auch in älteren Stadien an dem kleinzelligen Gewebe erkennen, das jeweils ein äußeres und inneres Bündel verbindet (Abb. 2). Der Verlauf des in basalen Internodien älterer Kürbispflanzen entstehenden interfasciculären Cambiums folgt diesem gebuchteten Meristemring und liefert somit einen weiteren Beweis für die Lage der „Interfascicel" bei *Cucurbita* (Abb. 11).

Die isolierten Siebröhren. Zwischen den äußeren Gefäßbündeln und der Perizykelschicht werden außer den Siebprimanen noch weitere Siebelemente angelegt. Sie liegen teils dem Perizykel direkt an, teils an der neu entstandenen Parenchymschicht. Es ist eine Streitfrage, ob diese isoliert liegenden Siebbündelchen bereits als extrafasciculär bezeichnet werden können. Rechnet man die Perizykelschicht über den Gefäßbündeln diesen hinzu, wozu durch die entwicklungsgeschichtlichen Vorgänge volle Berechtigung besteht, dann sind es nur Varianten der Phloemprimanen, bedingt durch die Expansion des peripheren Meristemringbereiches.

Bei *Aristolochia sipho* kommt man bestimmt nicht auf den Gedanken, die zu äußerst und einzeln stehenden Siebröhren des primären Siebteils als extrafasciculär zu bezeichnen. Nur bei *Cucurbita pepo*, wo ektocyclische Siebröhren vorkommen, ist man geneigt, die isolierten Siebröhren der Parenchymzwischenschicht als Beginn der extrafasciculären Siebröhrenentwicklung aufzufassen (wie Fischer 1884). Nimmt man jedoch den späteren, in dem betrachteten Stadium schon vorgezeichneten Bündelumriß als Fascicel an, der nur von großzelligem Grundgewebe und nicht von einer Gefäßbündelscheide oder Kappe (bzw. Stärkescheide) umschlossen wird, dann kann man die Einzelsiebröhren der Parenchymschicht allerdings als extrafasciculär bezeichnen. Auch die Primanen des fasciculären Phloems lassen sich nicht mehr genau dem Bündel zuordnen, da sie schließlich an den äußeren Rand der angenommenen Bündelbegrenzung zu liegen kommen.

Bei weiterer Differenzierung des Sproßgewebes, wenn auch auf der Innenseite des Gefäßbündels Siebröhren entstanden sind (inneres Phloem), entwickeln sich am inneren Rand des noch nicht wandverdickten Sklerenchymringes in fast regelmäßigen Abständen neue Einzel-Siebröhren. Ist eine Serie dieser entocyclischen Siebröhren entstanden, wird dazwischen eine zweite Serie angelegt. Man findet daher beim Absuchen des Innenrandes des Perizykels eine Alternanz von fertigen Einzelsiebröhren und plasmareichen Siebröhrendifferenzierungsstadien. Während die Siebröhren auf der Innenseite des Sklerenchymringes entstehen, kommen auch außerhalb von diesem Einzelsiebröhren zur Entwicklung. Zuerst findet man sie im Rindencollenchym und später in der Assimilationsrinde. Diese ektocyclischen Siebröhren entstehen ebenfalls nicht gleichzeitig, aber ein Ablösungsmuster wie bei den entocyclischen ist dort nicht festzustellen. Die Siebröhren des Collenchyms werden zusammen mit ihren Geleitzellen stark wandverdickt, sind bald inhaltsleer und nur noch durch ihre Zellgröße und typische Siebröhren-Geleitzellen-Kombi-

nation von den Collenchymzellen zu unterscheiden. In diesem Stadium ist die primäre Ausbildung der Gefäßbündel nahezu beendigt, der Sklerenchymring aber noch unverdickt mit stark plasmahaltigen Zellen, also dem Desmogen ähnlich. Die Endodermis, die lückenlos diesen Prosenchymring umgibt, ist dicht mit Stärkekörnern gefüllt (Stärkescheide). Während der Differenzierung der prospektiven Sklerenchymfasern werden aber die Stärkekörner in der Endodermis abgebaut und noch vor Fertigstellung der Ligninwände erscheint jene stärkefrei.

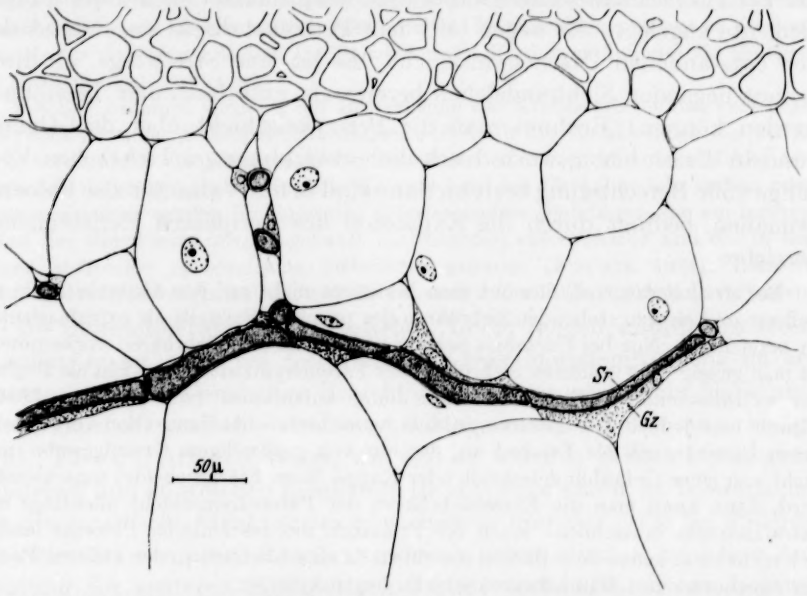


Abb. 3. *Cucurbita pepo*, Zierkürbis Freiburg, älteres Internodium quer. Verlauf und Anordnung der extrafasciculären, entocyclischen Siebröhren (*Sr*) auf der Innenseite des Sklerenchymringes. Die Siebröhren mit homogenem, dunklen Inhalt (funktionslos?), die Geleitzellen (*Gz*) granuliert, den Formen der Ursprungszellen angepaßt. Essigcarmin

Außer den entocyclischen Siebröhren, die direkt dem Versteifungsring anliegen, entstehen noch weitere entocyclische Siebröhren in dem Grundgewebe des Zentralzylinders zwischen den Bündeln des äußeren und inneren Kreises. Diese interfasciculären Siebröhren verlaufen viel häufiger als die übrigen extrafasciculären Siebröhren horizontal im Sproß und bilden Comissuren zwischen den benachbarten Gefäßbündeln der beiden Kreise, verbinden z. B. den äußeren Siebteil eines Bündels aus dem inneren Ring mit dem inneren Siebteil eines äußeren Bündels. Solche Siebröhrenbrücken schaffen aber auch gelegentlich eine Verbindung zwischen den äußeren und inneren Siebteilen ein und desselben Gefäßbündels. Sie bestehen meist aus mehreren Siebröhren. Die extrafasciculären Siebröhren verlaufen dagegen einzeln im Grundgewebe und bewegen sich nur über kurze Strecken horizontal im Sproß als Querverbindungen der senkrecht ziehenden Siebröhren (Abb. 3).

Vergleicht man die extrafasciculären, isolierten Siebröhren mit den fasciculären, so ist vor allem der geringere Durchmesser der ersteren auf-

fallend. Die Geleitzelle ist relativ größer als die Siebröhre (Abb. 4) wie bei den Siebprimanen des Stengels und den Siebröhren der Blattnervenendigungen. Die Querwände der Siebröhren sind anscheinend nur getüpfelt und nicht perforiert (lichtmikroskopisch!).

Die extrafasciculären Siebröhren entstehen durch ein- bis mehrfache Unterteilung einer Parenchymzelle (Abb. 3, 8). Die Gestalt der Geleitzellen ist z. T. recht eigenartig und von der Form der Parenchymzellen, die von den Siebröhren durchsetzt werden, bestimmt.

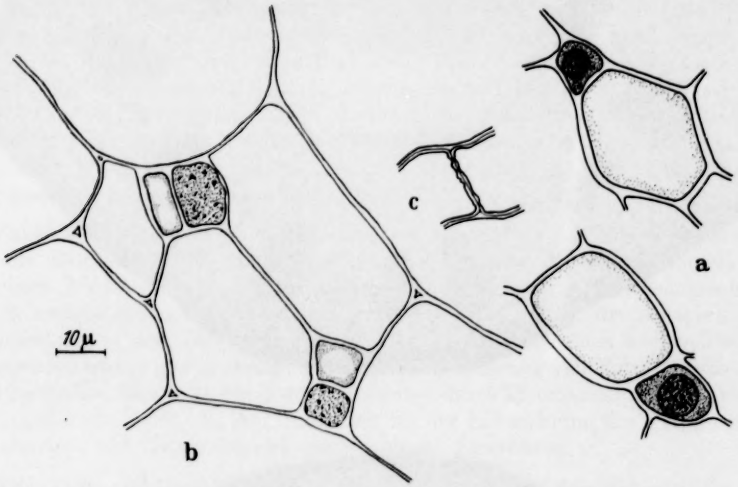


Abb. 4 a—c. *Cucurbita pepo*, Zierkürbis Freiburg, älteres Internodium quer. Vergleich von fasciculären (a) und interfasciculären (b) Siebröhren. c Schnitt durch eine extrafasciculäre Siebröhre mit der Querwand („Siebplatte"). Diese offensichtlich nicht mit den sonst bei *Cucurbita* üblichen großen Poren. Essigcarmin

Die ekto- und entocyclischen Siebröhren erfahren dasselbe Schicksal wie die Primanen; sie werden gedehnt, ihr Inhalt verfärbt sich braun, und sie kollabieren durch den Wachstums- und Turgordruck der angrenzenden Zellen, wenn sie nicht sehr starke Wände wie die Collenchymsiebröhren angelegt haben (Abb. 10). Ein gewisser Schutz vor der Obliteration ist auch bei denjenigen Siebröhren gegeben, die sehr eng dem Sklerenchymring anliegen oder in diesen eingebettet sind. Die Zerrung und Auflösung der extrafasciculären Siebröhren ist nicht so extrem wie die der echten Primanen, die ganz zu Beginn des Streckungswachstums angelegt wurden, doch haben sie wie diese nur transitorischen Charakter (Fischer 1884, Rouschal 1941).

II b. Cucurbita pepo und maxima (Hypokotyl)

Allgemeines. Häufig besitzt das Hypokotyl einen anderen Bündelbau als die Folgeinternodien (Flot 1890, 1893). Das trifft auch für die von uns untersuchten Kürbissorten zu. Über das Hypokotyl von *Cucurbita* liegen eine Reihe von

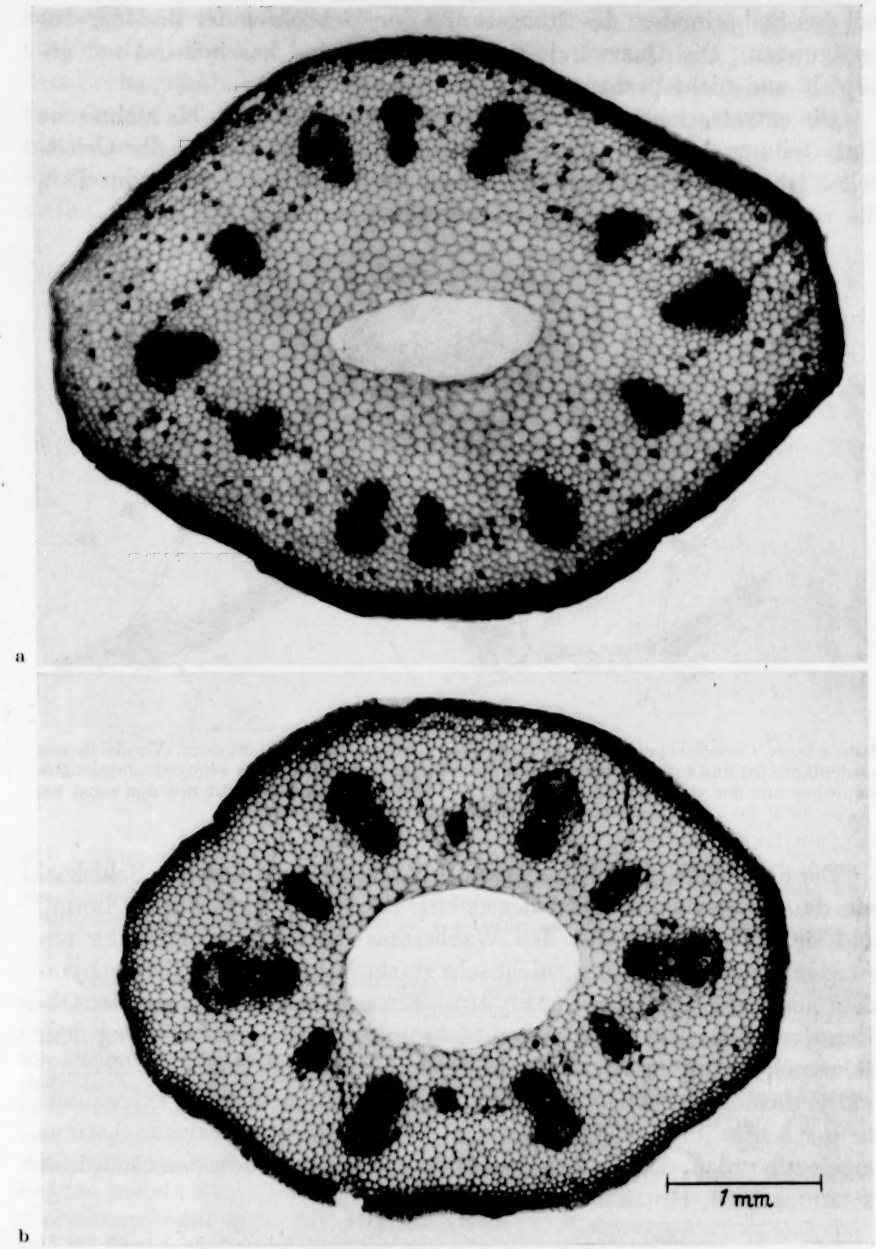


Abb. 5 a u. b. *Cucurbita*, Hypokotyl-Querschnitte von 10 Tage alten Keimlingen. a *C. maxima*, gelber Zentner. Zwölf Gefäßbündel und zahlreiche isolierte Siebröhren, durch die stark gefärbten Geleitzellen markiert. b *C. pepo*, Zierkürbis. Sechs Haupt-, vier Zwischenbündel, in der Medianebene (kurze Achse) zwei Leptombündel. Einige wenige interfasciculäre Einzelsiebröhren. Essigcarmin

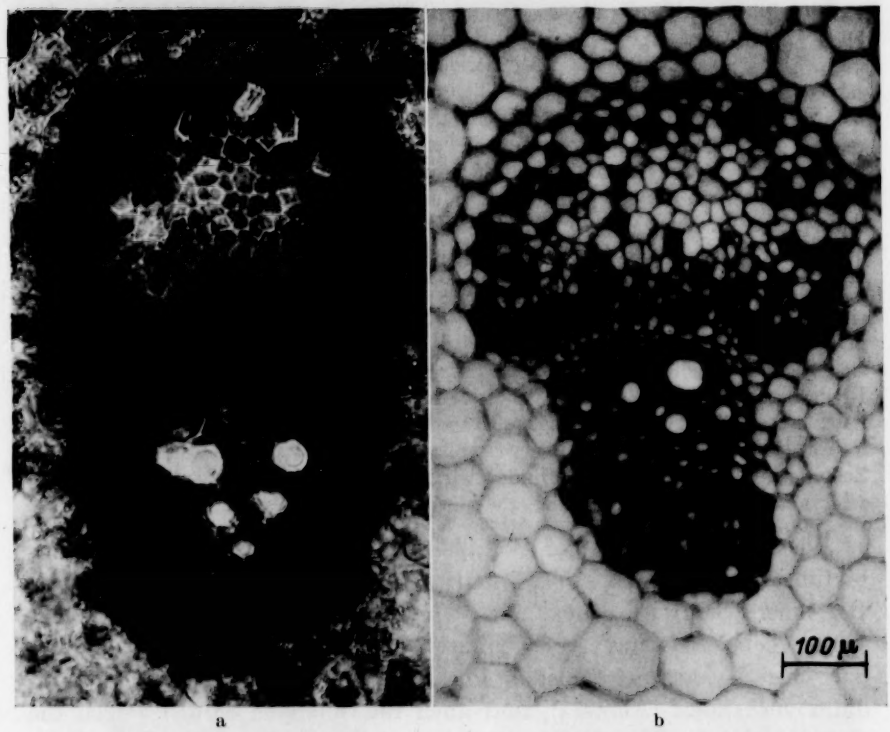
Arbeiten vor, u. a.: Sachs 1859, Gérard 1881, Fischer 1884, Dangeard 1889, Zimmermann 1922, Holroyd 1924, Rutledge 1930, Whiting 1938. Ein besonderes Interesse beanspruchte der Gefäßbündelverlauf, d. h. der Übergang von der Wurzel- zur Sproßstruktur. Extrafasciculäre Siebröhren im Hypokotyl erwähnen nur Fischer, Holroyd und Whiting. Der primäre Bau des Hypokotyls läßt sich folgendermaßen charakterisieren. Im Gegensatz zu den in zwei Kreisen angeordneten Bündeln der Sproßinternodien stehen die ebenfalls bikollateralen Gefäßbündel des Hypokotyls in einem Ring. Bei den Sorten der *C. maxima*-Gruppe sind es 10 bis 12 Einzelbündel, bei der *C. pepo*-Gruppe 6 bis 8. Der periphere Sklerenchymring fehlt (Abb. 5). Statt dessen werden in den größeren Gefäßbündeln Sklerenchymkappen über den Siebteilen angelegt (wie bei *Vicia faba*). Die Endodermis (Stärkescheide) liegt direkt den Bündeln außen an und ist nur dort typisch ausgebildet, nicht aber in den interfasciculären Bereichen. Diese und die Rinde sind von zahlreichen Einzelsiebröhren durchsetzt, stellenweise auch das Mark. Als Festigungsgewebe fungiert im primären Zustand eine 3- bis 4schichtige, collenchymatische, chlorophyllführende Außenrinde, die ununterbrochen unter der Epidermis verläuft (Abb. 10). Die ganze Sproßachse ist im Querschnitt oval, ebenso die Bündelanordnung sowie die rhexigene Markhöhle.

Entwicklung der Gefäßbündel. Schon im Hypokotyl des ruhenden Embryos sind die Einzelbündel als Desmogenstränge erkennbar. Ob ihre Anlage ebenfalls aus einem Meristemring hervorgeht, wird noch untersucht. Die Desmogenbündel sind jedenfalls schon lange vor der Samenreife, d. h. bevor die Ablagerung der Reservestoffe in den Zellen des Keimlings erfolgt, histologisch nachweisbar. In ihnen selbst erfolgt nur in geringem Maße die Speicherung von Vorratsstoffen. Der interfasciculäre Bezirk ist wie in der Sproßachse durch Plasmareichtum und kleinere Zellen gekennzeichnet. In ihm finden wir bei der Entwicklung des Keimlings Zwischenbündel und Leptombündel sowie isolierte Siebröhren.

Die Differenzierung der Gefäßbündel beginnt wieder mit der Ausbildung von Sieb- und Holzprimanen (ca. 3 Tage nach dem Ankeimen). Der innere Siebteil bleibt zunächst halbmeristematisch und bildet erst später Siebröhren aus. Auffallenderweise ist das prospektive Cambium (zwischen Xylem und äußerem Phloem) schon auf diesem frühen Stadium vorhanden (Abb. 6a), und auch im ruhenden Samen zeigen die Gefäßbündel des Hypokotyls die tangentiale Anordnung der Zellwände. Der äußere Siebteil erweitert sich mächtig und bekommt eine ganz typische haubenförmige Gestalt, wie in den Sproßinternodien (vgl. Abb. 6b). Der zentrale Teil des äußeren Siebteils der Hypokotylbündel bleibt bis auf einige Siebröhren, die in ihm stehen, undifferenziert. Erst beim Übergang zum sekundären Dickenwachstum bilden sich dort unter Verdrängung der Siebröhren Sklerenchymfasern, die schließlich eine Sklerenchymkappe liefern (Abb. 7b). Die Entwicklung des Sklerenchyms erfolgt also bei den Hypokotylbündeln inmitten des Siebteils (Phloemsklerenchym), im Gegensatz zu den Sklerenchymkappen bei *Vicia faba*, die außerhalb des Siebteils aus dem Pericambium gebildet werden (Perizykelsklerenchym). Die Differenzierung der Sklerenchymkappen setzt in den basalen Teilen des Hypokotyls ein und schreitet akropetal zum Kotyledonarknoten fort. Das ist erklärlich, weil das

Streckungswachstum des Hypokotyls von *Cucurbita* mittels einer apikalen, interkalaren Wachstumszone erfolgt und daher die basalen Teile zuerst ihre endgültige Länge erreichen, worauf sie mit totem Festigungsgewebe versehen werden können.

Die isolierten Siebröhren. Eine Unterscheidung der isoliert verlaufenden Siebröhren des Hypokotyls in ento- und ektocyclische wie beim

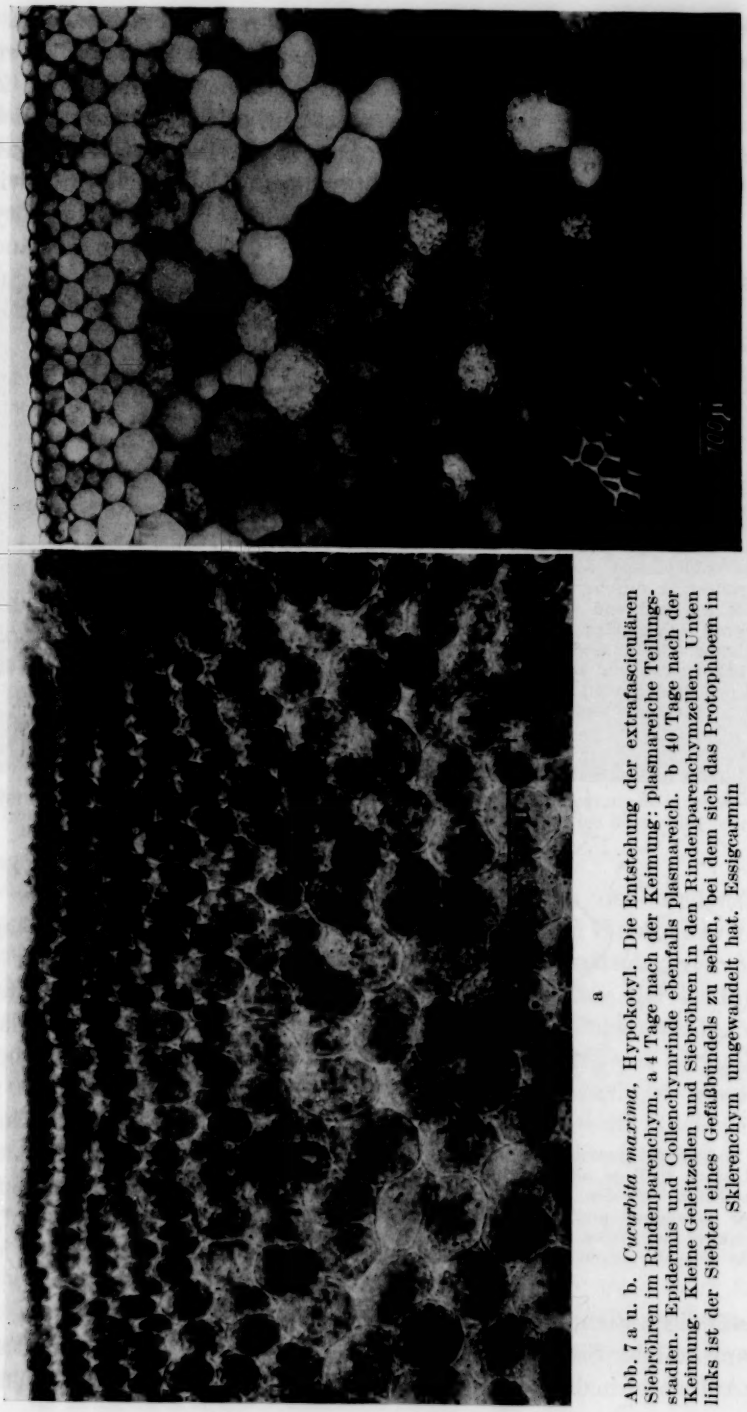


a b

Abb. 6 a u. b. *Cucurbita*, Hypokotyl. Entwicklung eines Gefäßbündels. a *C. maxima*. 4 Tage nach der Ankeimung. Sieb- und Holzprimanen plasmafrei. Gefäßbündelscheide, Cambium und inneres Phloem undifferenziert, plasmareich. Im Grundgewebe Reservestoffe. b *C. pepo* (Ölkürbis) 13 Tage. Primärer Zustand. Die Geleitzellen des Phloems sehr groß, stark gefärbt. Das Phloem-Sklerenchym noch undifferenziert, aber weitlumig und plasmaarm. Essigcarmin

Stengel ist wegen des fehlenden Sklerenchymringes nicht möglich. Es ist aber notwendig, eine Einteilung vorzunehmen, die wir folgendermaßen treffen wollen: 1. rindenständige, 2. interfasciculäre (in einem bestimmten Markstrahlbereich stehende) und 3. markständige Einzelsiebröhren.

In den Hypokotylen von *Cucurbita maxima* beginnt etwa am 3. bis 4. Tag die Entwicklung zahlreicher isolierter, vor allem rindenständiger Siebröhren. Die Siebröhreninitialen lassen sich infolge ihrer starken Plasmafärbung leicht erkennen (Abb. 7a). Die Rindenzellen werden in



a b

Abb. 7 a u. b. *Cucurbita maxima*, Hypokotyl. Die Entstehung der extrafascicularen Siebröhren im Rindenparenchym. a 4 Tage nach der Keimung: plasmareiche Teilungsstadien. Epidermis und Collenchymrinde ebenfalls plasmareich. b 40 Tage nach der Keimung. Kleine Geleitzellen und Siebröhren in den Rindenparenchymzellen. Unten links ist der Siebteil eines Gefäßbündels zu sehen, bei dem sich das Protophloem in Sklerenchym umgewandelt hat. Essigcarmin

den jungen Hypokotylen direkt zu Siebröhrenmutterzellen. Bei der Entwicklung aus älteren und relativ plasmaärmeren Rindenzellen erfolgen dagegen vorbereitende Zellteilungen, die Nebenzellen liefern (Abb. 7b, 8). Die Anzahl der rindenständigen Siebröhren überwiegt. Bei 40 Tage alten Hypokotylen wurden 230—330 rindenständige Siebröhren, 50—80 interfasciculäre und 0—4 markständige Siebröhren gezählt. Bei den *Cucurbita pepo*-Sorten ist das Hypokotyl nicht oder nur gering mit isolierten Siebröhren ausgerüstet. Diese entwickeln sich jedenfalls später (ab 10 Tage) und hauptsächlich im interfasciculären Bereich (Abb. 5). Am apikalen Teil reichen die isolierten Siebröhren bis in den Kotyledonarknoten und verbinden sich dort mit den — ebenfalls zahlreichen — in den Keimblättern verlaufenden Einzelsiebröhren. Am basalen Teil des Hypokotyls verlieren sich jedoch die rindenständigen Siebröhren zusehends (bei jüngeren Hypokotylen bis zu 50 mm Gesamtlänge etwa 5—6 mm über dem Wurzelhals, bei älteren mit 80 mm Gesamtlänge infolge der Streckung etwas höher, etwa 10 mm über dem Wurzelhals). An diesen Stellen treten vermehrt interfasciculäre Siebröhren auf, so daß angenommen werden kann, daß die rindenständigen Siebröhren in den interfasciculären Bereich eintreten. Die Gesamtzahl der Siebröhren reduziert sich basipetal, da anscheinend auch eine Aufnahme in die Gefäßbündel erfolgt. Der Wurzelhals und die Wurzel

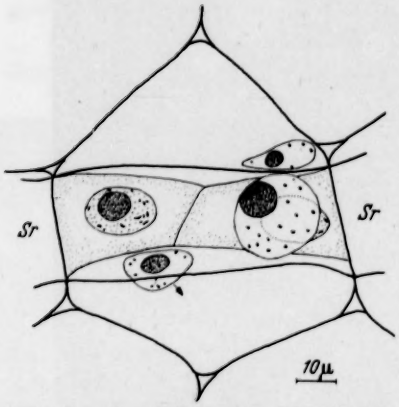


Abb. 8. *Cucurbita pepo*, Hypokotyl, Rindenzelle. Es ist gezeigt, wie eine horizontal verlaufende Siebröhre (*Sr*) die Ursprungszelle durchsetzt. Bei den Teilungsfolgen während ihrer Entstehung sind zwei Nebenzellen und eine geteilte Geleitzelle (Kern und Plasma stärker gefärbt) entstanden. Die Siebröhre enthält noch einen großen Kern mit Chromozentren. Essigcarmin

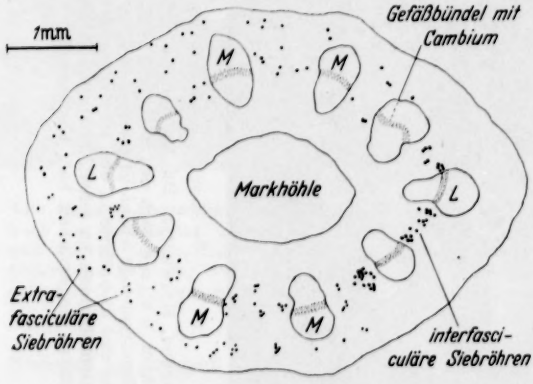


Abb. 9. *Cucurbita maxima*. Querschnitt durch das Hypokotyl eines 30 Tage alten Keimlings (5 mm über dem Wurzelhals). In dem von Rinden-Siebröhren freien Sektor vermehrte und geschichtete Ausbildung interfasciculärer Siebröhren. *L* die vereinigten Lateralbündel; *M* die doppelspurigen Medianbündel der Keimblätter

selbst besitzen keine rindenständigen, sondern nur interfasciculäre Siebröhren, die dort innerhalb der durchgehenden Endodermis (mit Caspary-schen Streifen) liegen. Die Übernahme der rindenständigen Siebröhren in die Bündel bzw. in den Interfascicularbereich erfolgt nicht gleichmäßig. In Serienschnitten durch die Hypokotylbasis läßt sich feststellen, daß zuerst nur ein Sektor des Querschnittes ohne rindenständige Siebröhren ist. Dieser Sektor vergrößert sich wurzelwärts, bis letztlich alle

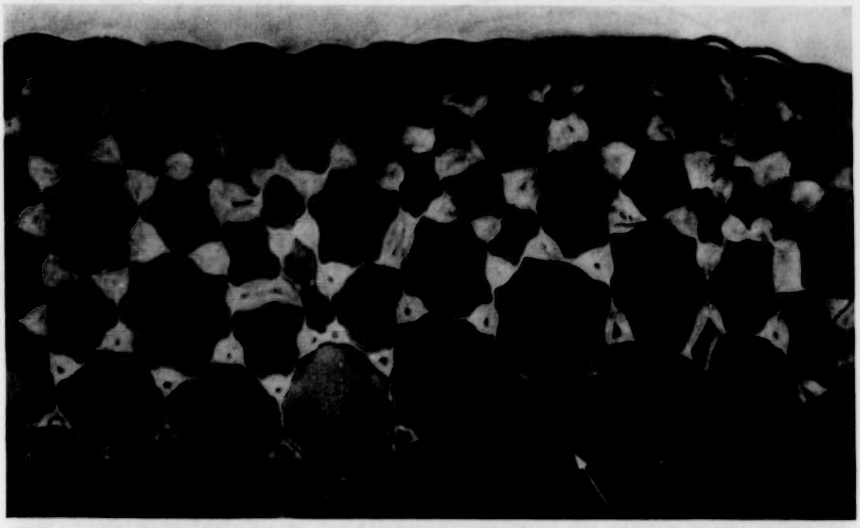


Abb. 10. *Cucurbita maxima*, Hypokotyl, Ausschnitt aus der Collenchymrinde eines 25 Tage alten Keimlings. An der Grenze zu den nicht verstärkten Rindenzellen liegt eine Siebröhre mit Geleitzelle (Pfeil). Essigcarmin

rindenständigen Siebröhren verschwunden sind. In den rindensiebröhrenfreien Sektoren ist die Zahl der interfasciculären Siebröhren stark vermehrt (Abb. 9). Diese schließen sich mit dem vollständigen Verschwinden der rindenständigen Siebröhren zu einem Ring, der aus interfasciculären Siebröhren und fasciculärem Cambium gebildet wird. Auffallend ist, daß die „Einziehung" der Rindensiebröhren in derjenigen Zone des Hypokotyls erfolgt, die keine collenchymatische Rindenverstärkung aufweist. So liegt der Gedanke nahe, daß die Rindensiebröhren an der Zuführung der notwendigen Baustoffe maßgebend beteiligt sind (vgl. FISCHER 1884). Dann müßten die Hypokotyle der *C. pepo*-Gruppe infolge der späteren Entwicklung und geringeren Zahl von Siebröhren ein sich später differenzierendes oder ein reduziertes Collenchym besitzen. Ein derartiger Unterschied war aber nicht feststellbar. Vielleicht besteht aber die Beziehung zwischen dem Vorkommen zahlreicher interfasciculärer Siebröhren und dem mächtigeren Durchmesser der *C. maxima*-Hypokotyle.

Die sekundäre Ausfertigung. Zwischen den Gefäßbündeln des Hypokotyls wird nach etwa 30—40 Tagen ein interfasciculäres Cambium gebildet. Seine Induktion erfolgt, vom Wurzelhals ausgehend, akropetal — wie die Sklerenchymbildung — und beginnt jeweils bei den in der Transversalebene der Keimblätter stehenden Gefäßbündeln. Erst sehr viel später findet der Ringschluß in der Lücke zwischen den beiden Medianbündeln statt. Auch in den Sproßinternodien kann, wie schon erwähnt, ein Interfascicular-Cambium zur Ausbildung kommen. Allerdings nur in den untersten Internodien, die auf das Epikotyl folgen. Dort ist das interfasciculäre Cambium entsprechend der Lage der Gefäßbündel zuerst gebuchtet. Eine ungleiche Teilungstätigkeit bewirkt aber, daß die weiter innen liegenden Cambiumteile stärker nach außen wachsen und allmählich die Buchten ausgeglichen werden (Abb. 11). In den Markstrahlen liefert das Cambium aber nur weitere Markstrahlzellen; somit entsprechen die sekundär verdickten Kürbis-Hypokotyle und -Stengel dem *Aristolochia*-Typ. Das *Epikotyl* besitzt 16—20 in einem Kreis stehende kleinere Bündel, zwischen denen ebenfalls ein interfasciculäres Cambium entsteht (SIGMUND 1957). Der Übergang zur typischen Sproßstruktur erfolgt also erst oberhalb des Epikotyls. Das sekundäre Dickenwachstum der basalen Sproßinternodien gleicht die Sproßachsen- und Hypokotylstruktur einander an. Ein Unterschied bleibt in der Form der Markhöhle, die beim Hypokotyl oval, beim Stengel fünfsternig ist. Ebenso ist die Lage des inneren Phloems und des primären Xylems (Primanen vor allem) auch in der älteren Sproßachse noch deutlich zweikreisig. (In ähnlicher Weise kann man bekanntlich mehrjährige, verholzte Wurzeln und Sproßachsen durch die Ausbildung des Marks bzw. des primären Holzes unterscheiden.) Als drittes Sproßachsenmerkmal dient der Sklerenchymring, der zwar durch das sekundäre Dickenwachstum gesprengt wird, aber noch deutlich nachweisbar bleibt. Es sei noch vermerkt, daß auch Peridermbildung einsetzen kann und außerdem zwischen innerem Phloem und Xylem ein Cambium ausgebildet wird, das sekundäre Innensiebteile liefert. Wenn man die gesamte Entwicklung der Leitungsbahnen von *Cucurbita* betrachtet, so lassen sich mehr Vergleiche zu den vorher beschriebenen Objekten ziehen, als man zunächst bei Zugrundelegung des „Kürbissproßschemas" für möglich hielt (s. Diskussion).

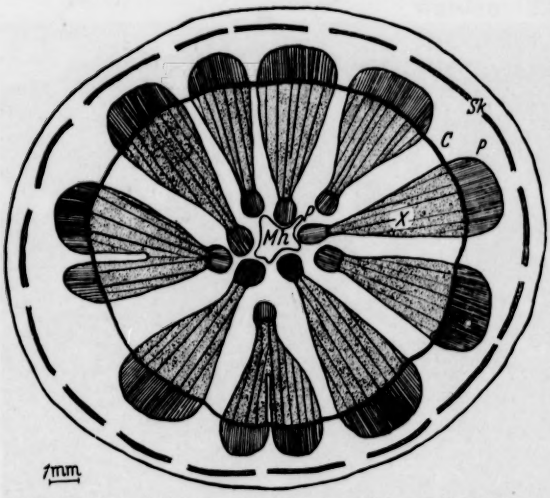


Abb. 11. *Cucurbita pepo*, Sproßachse. Internodium über dem Epikotyl einer 4 Monate alten Freilandpflanze. *Aristolochia*-Typ: Cambiumring, breite Markstrahlen, zersprengter Sklerenchymring (*Sk*). Das Cambium (*C*) hat sich zwischen den äußeren und inneren Gefäßbündeln gebildet (vgl. den Verlauf des Meristemringes in Abb. 2) und wie bei der Wurzel die unterschiedliche Stellung der Gefäßbündel ausgeglichen. *P* Phloem, *X* Xylem, *Mh* Markhöhle

Zum Abschluß der angeführten Beobachtungen sei jetzt nur das Besondere der *Cucurbita*-Entwicklung konstatiert. Die isolierten Siebröhren

sind sowohl in der Sproßachse als auch im Hypokotyl sehr zahlreich vorhanden. Ihre Gegenwart ist (im Hypokotyl) nicht unbedingt notwendig — jedenfalls nicht bei allen Sorten. Doch ist die Tendenz, Siebröhren zu bilden, im interfasciculären Bereich, dem alten Meristemringbezirk, immer vorhanden. Die interfasciculären Siebröhren können sich zu Siebbündeln zusammenschließen, die bei der weiteren Entwicklung zu Ergänzungsbündeln ausgebaut werden. Das sekundäre Dickenwachstum der älteren Sproßachsen und Hypokotyle entspricht dem Lianentypus *(Aristolochia)*.

C. Diskussion[1]

I. Der Meristemring und seine Entwicklungspotenzen

Unsere Beobachtungen nehmen den primären Meristemring als Ausgangspunkt und verfolgen dessen weiteres Schicksal an solchen Sproßachsen, die sich in der primären Ausbildung durch separate Bündel auszeichnen, also einen Entwicklungsgang zeigen, der gewöhnlich damit charakterisiert wird, daß man sagt: „Der Meristemring zerfällt in Gefäßbündel und Markstrahlen" (Helm 1932). Dadurch wird ausgedrückt, daß im Meristemring eine Determination erfolgt, die diesen in prospektives Gefäßbündel- und Grundgewebe (Markstrahlen) „aufspaltet". Es konnte aber gezeigt werden, daß die Entstehung von neuen Gefäßbündeln über eine längere Zeit hin fortgesetzt wird, und zwar über den Rahmen dessen hinaus, was bisher mit Haupt- und Zwischenbündeln gekennzeichnet wurde. Letztere Unterscheidung steht nur im Zusammenhang mit der frühen Induktion der Blattspurstränge, die noch vor den Stengelspuren (Zwischenbündel) angelegt und zunächst stärker entwickelt werden. Doch erfolgt auch noch bei den Stengelspuren eine sukzessive Entwicklung. Schon bei Helm (1932) finden sich Andeutungen darüber, daß der primäre Meristemring nicht auf einmal seine ihm innewohnenden Potenzen verwirklicht. So sind in Abb. 16 (S. 128, *Ricinus*-Stengel) der Helmschen Arbeit zwischen differenzierten Bündeln noch kleinzellige, meristematische Komplexe als prospektive Gefäßbündel erkennbar. Die Erklärung zu dieser Abbildung lautet: „Endzustand der primären Differenzierung des Meristemringes". Damit gibt Helm selbst zu, daß der Meristemring länger erkennbar bleibt, als es seiner Definition entspricht, die diesen als eine ganz kurze Zone unterhalb des Vegetationskegels vor dem Übergang zur Streckungszone kennzeichnet. Es ist vor allem die Schwierigkeit, wie man den „restlichen Meristemring" bezeichnen soll. Dieser besteht nämlich nicht mehr aus isodiametrischen Zellen, sondern hat inzwischen prosenchymatischen, also Desmogen-Charakter angenommen. Helm verwendet verschiedene Ausdrücke dafür: „Parenchymatischer Trennungsstreifen" oder „Zwischenstreifen". Rothert und

[1] Einschließlich der Ergebnisse des I. Teiles.

JOST (1934) nennen diesen bei *Brunella* „Intermediärzone" (Abb. 125, S. 86). Nach ESCHRICH (1953) besitzt auch *Impatiens Holsti* eine interfasciculäre, kleinzellige Gewebeschicht — von ihm als Procambiumring bezeichnet —, die nur in den Blattspuren Gefäßbündel bildet, im übrigen aber „wieder urmeristematischen Charakter annimmt" und das Interfascicular-Cambium entstehen läßt.

Dieser Procambium(Desmogen)ring wird von KOSTYTSCHEW auch für solche Objekte beschrieben, bei denen HELM distinkte Desmogenbündel nachweisen konnte. Geht man wie KOSTYTSCHEW nur von der Struktur plasmafreier Gewebeschnitte aus, wird jedes im Querschnitt kleinzellige Gewebe wie meristematisch erscheinen. Damit erklären sich die Unterschiede in der Darstellung der beiden Autoren über die primäre Entwicklung der Sproßachse.

Bei den hier vorliegenden Untersuchungen wurde sowohl die Zellgröße als auch der Plasmagehalt berücksichtigt, um festzustellen, wie lange diejenigen Teile des Meristemringes, die nicht zu Gefäßbündeln werden, die Eigenschaften eines Meristems behalten. Entwicklungsphysiologisch gesehen sind nur die Urmeristeme totipotent, der primäre Meristemring jedoch nicht mehr (Halbmeristem LINSBAUER, SCHÜEPP). Cytomorphologisch äußert sich der Unterschied zwischen Ur- und Halbmeristem in der allmählichen Abnahme der Plasmadichte (Vacuolisierung), Streckung der Zellen (Prosenchym) und entsprechender Formänderung der Zellkerne. Das ist aber zur Charakterisierung ungenügend, da diese Phänomene die gleichen wie zu Beginn jeder mit Streckung einhergehenden Differenzierung sind.

Echte Indizien oder spezifische Reaktionen für meristematische Zellen sind nicht bekannt (REUTER 1955, S. 38). Diese wären notwendig, um den entwicklungsphysiologischen Verlauf der Meristemringdifferenzierung zu erkennen. Die Helmsche Katalase-Reaktion gibt Hinweise, aber genügt noch nicht. Zur Diagnose eines Meristems bleiben uns: Die Teilungstätigkeit, die Kleinzelligkeit (evtl. nur im Querschnitt) und der relative Plasmareichtum.

Betrachten wir die verschiedenen Differenzierungsleistungen des Meristemringes, so zeigt sich, daß er während des ganzen primären Dicken- und Streckungswachstums Neubildungen einleiten kann, wenn auch nach und nach quantitativ abgeschwächt. Bei unseren Untersuchungen ist nur die prospektive Bedeutung erfaßt; die prospektiven Potenzen sind vermutlich größer. So schreibt HELM (1932): „Dieser Meristemring besitzt nun, da seine Zellen ja noch völlig meristematisch sind, die Potenz, jede beliebige Gewebeart aus seinen Zellen differenzieren zu können." Nur die Art der Formierung der Bündelinitialen im Meristemring legt die primäre Anordnung der Gefäßbündel fest. Dies geschieht nicht auf einmal, sondern in mehreren Wellen. Zuerst werden die Blattspurbündel induziert. Danach entstehen die Zwischenbündel I. Ordnung, womit sich der Vorgang der Initialenbildung aus dem Meristemring wiederholt. Die Determination weiterer Desmogenbündel, die

vollständige Gefäßbündel ergeben, kann auch noch in älteren Teilen der Streckungszone erfolgen. Diese Zwischenbündel II. Ordnung sind aber wiederum kleiner als die I. Ordnung und zeigen nur eine geringe Entwicklung ihrer primären Gewebe, wobei typische Primanen meist fehlen. Das interfasciculäre Halbmeristem ist dann noch fähig, *einzelne* Gefäßelemente in seinen äußeren Schichten (Pericambium) zu bilden, was zur Entwicklung von isoliert stehenden (interfasciculären) Siebröhren oder bei Häufung dieser Elemente zu Leptombündeln führt. Die Eigenschaften des interfasciculären Halbmeristems, Leitungsbahnen zu bilden, wird also bei der fortschreitenden Entwicklung in der Weise eingeschränkt, daß zuletzt nur Siebteile (Phloem ohne Sklerenchym) entstehen können. Und nach der Formierung aller Gefäßbündel und sogar nach deren Differenzierung bleibt ein halbmeristematischer, interfasciculärer Streifen oder Ring übrig, der erst bei Abschluß der Streckung und des primären Dickenwachstums in Differenzierung übergeht, aber keine Leitungsbahnen mehr, sondern nur Markstrahlen oder Sklerenchymfasern liefert.

II. Das Interfascicular-Cambium — ein echtes Folgemeristem?

Zur Beantwortung dieser Frage muß untersucht werden, inwieweit die „Markstrahlen" noch halbmeristematische Eigenschaften besitzen. Gehen wir von dem Querschnittsbild aus, so gleicht bei einigen Objekten, *Vicia* und *Conium*, sowie *Brunella* (Rothert-Jost), *Plantago* (Kostytschew), *Helianthus*, *Ricinus*-Stengel (Helm) der interfasciculäre Bereich noch weitgehend einem Meristemstreifen und hebt sich deutlich von Rinde und Mark ab, auch wenn der Plasmagehalt nicht mehr so groß ist. Dieser ist aber auch beim Cambium selbst (interfasciculär oder fasciculär) nicht mehr in dem Maße wie bei Desmogen- oder Urmeristemzellen vorhanden. Bei anderen Objekten sind die Zellen, in denen das interfasciculäre Cambium entsteht, annähernd von der Größe und dem Typ (z. B. Stärkegehalt) der Rinden- und Markzellen (*Aristolochia*, *Cucurbita*, Hypokotyl und Stengel; *Ricinus*, Hypokotyl). Schon Kostytschew weist auf die unterschiedliche Zellgröße des Zwischengewebes hin und sagt: Es sei um so großzelliger, je früher es in den Zustand der Reife übergeht. Bezogen auf den Meristemring, bedeutet ein großzelliges interfasciculäres Zwischengewebe, daß die Embryonalität in den Interfaszikeln frühzeitig erlischt, d. h. daß sich der Meristemring sehr schnell in Parenchym und Desmogen differenziert. Das ist nach Helm z. B. bei *Ranunculus acer* der Fall. Anders ausgedrückt: Die Pause zwischen primärem und sekundärem Dickenwachstum ist in großzelligen Interfaszikeln länger als in denen mit kleinen Zellen, wenn bei letzteren überhaupt eine längere Unterbrechung der Teilungstätigkeit vorhanden ist. Es hat den Anschein, als ob bei manchen Objekten auch in den Bündeln eine kurze Teilungsruhe vor dem Beginn der Cambiumproduktion

eingeschoben ist, da erst die vom Desmogen vorgebildeten Zellen zu Metaxylem und Metaphloem differenziert werden, bevor die tangentialen Teilungen im Cambium beginnen. Eine besonders lange Pause ist bei dem inneren fasciculären Cambium von bikollateralen Bündeln vorhanden, das erst in sehr alten Stengelteilen zwischen Xylem und innerem Phloemteil induziert wird.

Die Darstellungen in den Lehrbüchern räumen dem fasciculären Cambium eine Sonderstellung ein. Es läßt sich weder eindeutig als primäres noch als sekundäres Meristem einordnen. Da es sekundäre Dauergewebe liefert, müßte es ein sekundäres Meristem sein (BONNER, Lehrbuch, 26. Aufl., S. 37). Sekundäre Meristeme sind aber nach demselben Buch eigentlich nur die Folgemeristeme. Daher wird auf S. 105 korrigiert in: „... das fasciculäre Cambium des Sekundärzuwachses ...". TROLL (Lehrbuch) rechnet alle Cambien zu den Folgemeristemen und unterscheidet bei diesen solche, die „entweder erst sekundär in Tätigkeit treten oder überhaupt Neubildungen darstellen". Wenn das fasciculäre Cambium so, d. h. als eine nach einer Pause wieder tätige Sekundärzuwachszone angesehen wird, ist der Unterschied zum interfasciculären nur noch ein topographischer, aber kein grundsätzlicher (entwicklungsphysiologischer) mehr. Zu dieser Auffassung zwingt die hier wiedergegebene Entwicklungsgeschichte des Meristemringes, dessen Abkömmlinge nach kürzerer oder längerer Pause sowohl das Fascicular- als auch das Interfascicular-Cambium hervorbringen. Ganz anders ist das Phellogen ein typisches Folgemeristem, das in seiner Entstehungsweise nichts mit dem interfasciculären Cambium gemeinsam hat. Das Phellogen entsteht aus Rinden- (oder Epidermis-) Zellen, also aus Schichten, die lange vor den Zellen des Meristemringes ihre embryonalen Eigenschaften verloren haben. K. ESAU unterscheidet in ihrer „Plant Anatomy" (1953) einfacherweise nur noch apikale und laterale Meristeme, um die terminologischen und didaktischen Schwierigkeiten „primäres Meristem = Cambium → sekundäre Dauergewebe" zu umgehen. Es erscheint uns aber zweckmäßig, wie SCHÜEPP (1926) die frühere Einteilung in Urmeristeme, Halbmeristeme und Folgemeristeme zu verwenden, um den entwicklungsgeschichtlichen und entwicklungsphysiologischen Aspekten gerecht zu werden, vor allem bei der Betrachtung der Histogenese der Leitgewebe.

Versuchen wir nun an Hand der untersuchten und anderer Beispiele die Frage nach der Einordnung des Interfascicular-Cambiums zu den Halb- oder Folgemeristemen möglichst allgemein durchzuführen. Es scheinen allerdings Fälle vorzukommen, bei denen das interfasciculäre Cambium in bereits differenzierten Markstrahlen entsteht. Betrachtet man die Querschnitte genau, so stellt man aber immer noch eine gegenüber dem Mark und der Rinde kleinzelligere Struktur des interfasciculären Streifens fest. Trotzdem ist das Auftreten von neu induziertem, interfasciculärem Cambium nicht glattweg abzulehnen, besonders bei solchen Objekten, die erst spät mit der Bildung eines geschlossenen Cambiumringes beginnen *(Cucurbita)*. Wenn aber festzustellen ist, daß kurz vor der Bildung des interfasciculären Cambiums der restliche Meristemring noch Leitungsbahnen (und Cambium!) differenziert, dürfte an seiner halbmeristematischen Eigenschaft nicht zu zweifeln sein. In solchen Fällen kann man die interfasciculären, prospektiven Cambiumzellen

den fasciculären oder deren Vorstufen homolog setzen. Überblickt man die verschiedenen Entwicklungswege und -formen, so läßt sich bezüglich der prospektiven *Bedeutung* der Meristemringzellen im Verlauf der Ontogenie folgende Reduktionsreihe der Embryonalität aufstellen:

Stufe 1: Vollständige Embryonalität (für Stelärgewebe) = Bildung von kompletten Bündeln, einschließlich Sklerenchym, Zwischengewebe, isolierten Siebröhren.

Stufe 2: Embryonalität für Holzgefäße, Holzparenchym und evtl. Phloemsklerenchym verloren = Bildung von Leptombündeln (isolierte Siebröhren) und fasciculärem Cambium.

Stufe 3: Embryonalität auch für Leptom erloschen = Bildung des „interfasciculären" Cambiums ohne Rückdifferenzierung.

Stufe 4: Differenzierung des Perizykel-Sklerenchymringes oder des Xylem-Sklerenchyms.

Stufe 5: Embryonalität vollständig erloschen (auch für interfasciculäres Cambium).

Bei Erreichung der Stufe 5 ist eine Entstehung des interfasciculären Cambiums nur durch Verjüngung ausdifferenzierter Zellen durch Teilungsinduktion möglich („Regressive Entwicklung").

Bei allmählicher Differenzierung und gleitendem Übergang zum sekundären Dickenwachstum vermittels eines Cambiumringes sind die Stufen 1 bis 3 oder 1 bis 4 zu finden. Geht das Halbmeristem aber schnell in Differenzierung über, so fallen die Stufen 3 oder sogar 2 und 3 aus. Das heißt, es entsteht eine merkliche Pause bis zum Wiederaufleben der Teilungstätigkeit im interfasciculären Bereich, wobei sogar die Entwicklung von Leptombündeln ausbleiben kann. Die Differenzierung geht dann von der Stufe 1 oder 2 (evtl. über 4) direkt zu 5 über. In der folgenden Aufstellung sind die Entwicklungsstufen für die untersuchten und einige andere Objekte angegeben. In Klammern gesetzt ist der Cambiumring dann, wenn er nur in den älteren Stengelinternodien zustande kommt.

Vicia faba	1→2→3→4——→	(Cambiumring)
Conium maculatum	1→2→3→4——→	(Cambiumring)
Aristolochia sipho	1→2——→4→5→	Cambiumring
Cucurbita Stengel	1→2——→4→5→	(Cambiumring)
Cucurbita Hypokotyl	1→2————→5→	Cambiumring
Ricinus Hypokotyl	1————————→5→	Cambiumring
Viola tricolor	1————→4→5	—
Ranunculus repens (Ausläufer)	1————————→5	—

Außer bei *Vicia faba* und *Conium maculatum* kommt die Induktion des Interfascicular-Cambiums aus desmogenartigen Zellen noch bei *Brunella*, *Salvia* und anderen krautigen Pflanzen vor, die bei Rothert-Jost als Typ 4 des sekundären

Dickenwachstums bezeichnet sind. Es sind die Fälle, bei denen ein Xylemsklerenchym aus dem restlichen Meristemring gebildet wird.

In der Stufe 1 kommt es (außer bei *Aristolochia*) noch zu Abstufungen in der Stärke der gebildeten Gefäßbündel, so daß der Übergang zur Stufe 2 gleitend ist. In dem Maß wie der Meristemring älter wird, sind die nachträglich entstehenden Desmogene immer reduzierter. Das kann soweit gehen, daß ein Gefäßbündel nur noch aus je zwei Holzgefäßen und Siebröhren und einer (!) Cambiumzelle besteht. Unter Einschluß der sekundären Gewebe ergeben sich bei der kontinuierlichen (langsamen) Entwicklung des Meristemringes von *Vicia faba* verschiedene Typen der Gefäßbündel:

Primäre kollaterale Bündel I. Ordnung (Blattspurstränge = Hauptbündel).

Primäre kollaterale Bündel II. Ordnung (Stengelspuren = Zwischenbündel I. Ordnung).

Primäre kollaterale Bündel III. Ordnung (Stengelspuren = Zwischenbündel II. Ordnung).

Primäre laterale Bündel (Leptombündel).

Primäre Einzelsiebröhren.

Ergänzungsbündel (Protoxylem fehlt).

Primäre-sekundäre kollaterale Bündel (Leptom primär, Xylem sekundär).

Sekundäre kollaterale Bündel (aus dem interfasciculären Cambium).

Sekundäre laterale Bündel (Leptomgruppen aus dem interfasciculären Cambium, ohne korrespondierende Holzgefäße).

Weitere Folgerungen aus den Beobachtungen. Die Anordnung der Gefäßbündel bzw. Desmogenbündel im Meristemring ist ein Sperreffektmuster (BÜNNING 1953). Die entstehenden teilungsaktiven und plasmareichen Hemmungszentren *(Meristemoide)* verhindern zunächst die Anlage weiterer Bündelinitialen. Erst wenn im Verlauf des primären Dickenwachstums eine Erweiterung des Bündelringes und damit eine Vergrößerung der Abstände zwischen den Hemmungszentren eintritt, wird die Organisation weiterer Bündelinitialen in den Zwischenbereichen möglich, ähnlich wie durch Flächenwachstum bei der Blattentwicklung neue Spaltöffnungsinitialen zwischen den schon vorhandenen entstehen können (BÜNNING und SAGROMSKY 1948). So wird die Bildung von Zwischenbündeln (I. und II. Ordnung) ebenfalls noch als Sperreffektmuster erklärbar. Die danach entstehenden isolierten Siebröhren bilden aber keine Hemmungszentren und sind daher nicht musterartig angeordnet. Doch entstehen Gruppen von Siebröhren (Leptombündel) wiederum nur in der Mitte eines größeren Interfaszikels und verhalten sich damit wie die Zwischenbündel. Durch Induktion eines Cambiums und daraus hervorgehendem Xylem werden sie diesen angeglichen. Ihre

Entwicklungsgeschichte weicht aber vollkommen von dem bekannten Schema ab, da ihnen die üblichen Vorstufen des Protoxylems fehlen. Die Elemente der Ergänzungsbündel entstehen in der Reihenfolge: Protophloem (nur Leptom), Cambium, Metaxylem (bzw. Sekundärxylem).

Nicht alle Leptomgruppen ergänzen sich durch Xylem zu kollateralen Bündeln. Aber auch bei ihnen entsteht auf der Innenseite ein Cambium aus dem interfasciculären Desmogen, also ein Interfascicular-Cambium, noch bevor von dem Fascicular-Cambium ausgehend der Cambiumring gebildet wird. So kann also das *Interfascicular-Cambium* auch *heterogenetisch* (durch die Leptomgruppen!) und nicht nur wie gemeinhin homoiogenetisch (durch das Bündelcambium) induziert werden. Voraussetzung dazu scheint nach dem oben Ausgeführten die meristematische Bereitschaft des Interfascicels zu sein. Auch nach der Herstellung eines Cambiumringes fallen sowohl die Fascicular- wie die „Leptom-Cambien" durch ihre zahlreicheren und enger liegenden Tangentialwände auf. Diese und die im vorigen Abschnitt wiedergegebenen Beobachtungen legen den Gedanken nahe, daß die Cambiumtätigkeit von der Hormon- und Baustoffzufuhr des Siebteils angeregt und die Orientierung der Kernteilungsspindel in den Cambiumzellen durch ein radiales, vom Siebteil ausgehendes Stoffgefälle verursacht wird. Die Polarität Phloem-Xylem ist für diese Orientierung nicht erforderlich, wie die Lage der Cambiumteilungswände bei reinen Leptombündeln lehrt.

III. Die isolierten Siebröhren

Abschließend soll noch die entwicklungsgeschichtliche Stellung — und soweit möglich — die physiologische Bedeutung der isolierten Siebröhren diskutiert werden. Solche kommen außer bei *Cucurbita*, wo sie bisher bekannt waren, auch bei *Vicia*, *Conium* und *Aristolochia* vor. Siebröhrengruppen (Leptombündel) jedoch sind schon bei *Coleus*, *Teucrium* u. a. (v. Guttenberg 1943) und *Impatiens* (Eschrich 1953) gefunden, aber sonst nur wenig beachtet worden. Die Cucurbitaceen nehmen bezüglich Anordnung und Zahl der isolierten Siebröhren eine Sonderstellung ein. Fischer (1884) hat die extrafasciculären Siebröhren der Cucurbitaceen ausführlich beschrieben und in ento- und ektocyclische unterschieden. Die hier bei den übrigen Objekten beschriebenen extrafasciculären Siebröhren sind ausschließlich entocyclische, da sie nur innerhalb der Stärkescheide vorkommen, teilweise sogar im Pericambium entstehen (Perizykelleptom). Um aber im Rahmen der Betrachtungen über den Meristemring die besondere Rolle dieser entocyclischen Siebröhren zu betonen, haben wir sie als interfasciculäre Siebröhren bezeichnet. Ihre Lage und Determination ist, wie oben schon mehrfach erwähnt, entwicklungsphysiologisch erklärbar. Das gilt im selben Maße für alle entocyclischen Siebröhren der *Cucurbita*-Arten, auch wenn sie nicht inter-

fasciculär sind. Aber auch dort besitzen nur die interfasciculären Siebröhren die Fähigkeit zur Gruppenbildung von zwei und mehr Siebröhren oder vermögen — wie bei *Vicia faba* — Induktionsorte neuer Gefäßbündel zu sein. Die ektocyclischen Siebröhren von *Cucurbita* sind als rindenständige entwicklungsgeschichtlich nicht vom Meristemring ableitbar. Zu ihrer Erklärung kann man die rindenständigen Gefäßbündel (z. B. die medianen Blattspurstränge von *Vicia faba*) schwerlich heranziehen, da diese Abzweigungen der Stele darstellen, die aus eigenen Desmogenen (Bündelinitialen) hervorgehen. Einzig die subepidermalen Sklerenchyme (als normalerweise stelärer Gewebetyp) lassen sich eventuell zum Vergleich heranziehen. Um so nachhaltiger drängt sich die Frage nach der Bedeutung dieser rindenständigen, aber auch der entocyclischen (stelären) Siebröhren auf. Bis jetzt sind nur bei Cucurbitaceen Untersuchungen und Diskussionen zur Physiologie der extrafasciculären Siebröhren durchgeführt worden.

FISCHER (1884) vermutet bei diesen einen Zusammenhang mit der enormen primären Längen- und Dickenentwicklung der Kürbisausläufer. Die Parenchymwanderwege würden nicht zur Beförderung der notwendigen Baustoffe in die peripheren Stengelbezirke ausreichen. Dafür spricht die Tatsache, daß die das Rindencollenchym und den Sklerenchymring versorgenden Siebröhren *vor* der Wanddifferenzierung dieser mechanischen Elemente entstehen und nach der Herstellung entleert werden und obliterieren. Unsere Beobachtung, daß nur die mächtigen Hypokotyle von *Cucurbita maxima* zahlreiche und früh entstehende extrafasciculäre Siebröhren besitzen, führt zur gleichen Folgerung. ROUSCHAL (1941) stellt mit Hilfe von Fluorochromen fest, daß die extrafasciculären Siebröhren vom Blattansatz aus in beiden Richtungen, die Bündelsiebröhren nur in einer Richtung ableiten. Sie mögen daher dem Nahtransport der Assimilate dienen. HOLROYD (1924) vermutete eine Funktion der extrafasciculären Siebröhren bei der *Ableitung* der Kohlenhydrate aus dem mächtig entwickelten Assimilationsparenchym der Stengelrinde. Die Geleitzellen dieser Siebröhren zeigen eine starke Phosphatasereaktion (WANNER 1952). HANSTEIN (1864) betont die Ähnlichkeit mit Milchröhren und beschreibt sogar einige wie Siebröhren aussehende Zellstränge als Milchröhren. Nach BRAEMER (1893) gleichen die isolierten Siebröhren der von ihm untersuchten Cucurbitaceen *(Bryonia, Ecballium, Citrullus)* morphologisch und chemisch den Milchröhren von Campanulaceen und Convolvulaceen; er bezeichnet sie aber ausdrücklich als Siebröhren, obwohl er weder Siebplatten noch Callus finden konnte. Die Ähnlichkeit des Verlaufes der isolierten Siebröhren mit der Anordnung von Milchröhren ist zweifellos vorhanden. Die Anwesenheit von Geleitzellen dürfte aber ein eindeutiges Kriterium für Siebröhren sein.

Über die Physiologie speziell der *inter*fasciculären Siebröhren läßt sich noch wenig sagen. Sie könnten eventuell der Ableitung der Assimilate aus den chlorophyllführenden Rindenschichten dienen, wenn die Bündelsiebröhren wegen der vorgelagerten Sklerenchymscheide (z. B. *Vicia faba*) dazu nicht fähig sind. Sie würden dann in ihrer Funktion den Siebröhren der Blattnerven ähneln. Zu dieser Annahme berechtigen die relativ mächtigen Geleitzellen. Die TTC-Reaktion gab aber keinen entsprechenden Hinweis. Genau so gut ist es möglich, daß die inter-

fasciculären Siebröhren die Versorgung der Stärkescheide mit Assimilaten, die sie aus den Gefäßbündeln erhalten, bewerkstelligen. Gleichzeitig könnten sie — auf Grund ihres anatomischen Verlaufes — dem Quertransport zwischen den Gefäßbündeln eines Internodiums dienen, weil gerade bei *Vicia faba* in den Knoten nur wenige Anastomosen zwischen den Blatt- und Stengelspuren vorhanden sind. Schließlich ist noch zu konstatieren, daß die interfasciculären Siebröhren offensichtlich Teilungshormone (Leptohormone, HABERLANDT) führen oder, vorsichtiger ausgedrückt, teilungsinduzierend wirken, wie das die heterogenetische Induktion eines Cambiums und dessen verstärkte Teilungstätigkeit in der Nähe von Leptomgruppen zeigt.

Zusammenfassung[1]

An den Objekten *Vicia faba*, *Conium maculatum*, *Aristolochia sipho* und *Cucurbita maxima* und *pepo* wurde die Entwicklung der Sproßachse histogenetisch untersucht. Dabei ist besonders die Entwicklung des primären Meristemringes und der isolierten Siebröhren beachtet worden.

Der primäre Meristemring bzw. das aus ihm hervorgehende Gewebe (Desmogen) besitzt über längere Zeit die Fähigkeit zur Bildung verschiedener Gewebe. Nicht nur die Gefäßbündel und Markstrahlen gehen aus ihm hervor, sondern auch die primären Sklerenchyme und isolierten Siebröhren oder Siebröhrenbündel, außerdem steläres Grundgewebe (Parenchym) und schließlich in zwei Fällen das interfasciculäre Cambium, dessen Folgemeristemcharakter damit in Frage gestellt ist.

Eine besondere Rolle spielen dabei die Siebröhrenbündel (Leptombündel). Sie können als unvollständige Bündel verbleiben, bilden aber auf ihrer Innenseite ein Cambium. Dieses wird demnach nicht nur homoiogenetisch (von den fasciculären Cambien), sondern auch heterogenetisch induziert. Die Häufigkeit und die Orientierung der cambialen Zellteilungen stehen unter dem Einfluß der im Siebteil vorhandenen Hormone und Baustoffe. Die Siebröhrenbündel sind außerdem Induktionsorte neuer, vollständiger Gefäßbündel. Diesen fehlen die Holzprimanen, da die Holzteile erst lange nach den Siebprimanen (gegen Ende des Streckungswachstums) gebildet werden. Die so entstandenen — Ergänzungsbündel benannten — Leitungsbahnen weichen darin von dem bisher bekannten Entwicklungsgang eines Gefäßbündels ab.

Die Struktur der primären Sproßachse einer dikotylen Pflanze wird bestimmt von der zeitlichen und räumlichen Differenzierungsfolge der einzelnen aus dem Meristemring hervorgehenden Gewebeteile, nicht zuletzt von der Verformung, die der anfangs immer kreisförmige „Ring" durch die Wachstums- und Teilungsvorgänge in der jungen Sproßachse

[1] Einschließlich des I. Teiles.

erfährt. Der Meristemring verliert erst allmählich und schrittweise die Fähigkeit *zur Anlage* der verschiedenen Gewebetypen eines Leitbündels in der Reihenfolge: Holzgefäße, Phloem-Sklerenchym, fasciculäres Cambium, Siebröhren, Xylem-Sklerenchym bzw. Perizykelsklerenchym, interfasciculäres Cambium. So wurde eine Einsicht gewonnen, wie bei der Histogenese der Sproßachse die sukzessive Einengung der prospektiven Bedeutung des Meristemringes erfolgt.

Die einzelnen oder in Gruppen aus dem interfasciculären Desmogen hervorgehenden Siebröhren besitzen Verbindung zu den Bündeln. Sie könnten daher dem Nahtransport dienen, wie das von den einzeln stehenden Siebröhren der Cucurbitaceen schon bekannt ist. Auch die Verteilung der Assimilate aus den Blatt- in die Stengelspuren des Bündelringes dürfte Aufgabe der interfasciculären Siebröhren sein.

Literatur

BARY, A. DE: Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. In Handbuch der physiologischen Botanik, Bd. III. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1877. 663 S. — BAUER, L.: Zur Frage der Stoffbewegungen in der Pflanze mit besonderer Berücksichtigung der Wanderung von Fluorochromen. Planta (Berl.) **42**, 367—451 (1953). — BRAEMER, L.: Sur la localisation des principes actifs dans les Cucurbitacées. C. R. Acad. Sci. (Paris) **117**, 753—754 (1893). — Zit. nach WHITING 1938. — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. 539 S. — BÜNNING, E., u. H. SAGROMSKY: Die Bildung des Spaltöffnungsmusters in der Blattepidermis. Z. Naturforsch. **3b**, 203—216 (1948). — BUVAT, R.: Structure, évolution et fonctionnement du méristème apical de quelques dicotylédones. Ann. Sci. nat., Bot. 11e sér., **13**, 199—300 (1952). — DANGEARD, P. A.: Recherches sur la mode d'union de la tige et la racine chez les dicotylédones. Botaniste **1**, 75—125 (1889). Zit. nach WHITING 1938. — ESAU, K.: Origin and development of primary vascular tissues in seed plants. Bot. Review **9**, 125—206 (1943). — Vascular differentiation in the vegetative shoot of Linum. III. The origin of bast fibers. Amer. J. Bot. **30**, 579—586 (1943). — Phloem structure in the grapevine, and its seasonal changes. Hilgardia **18**, 217—296 (1948). — ESCHRICH, W.: Beiträge zur Kenntnis der Wundsiebröhrenentwicklung bei Impatiens Holsti. Planta (Berl.) **43**, 37—74 (1953). — FABER, F. C. v.: Zur Entwicklungsgeschichte der bikollateralen Gefäßbündel von Cucurbita pepo. Ber. dtsch. bot. Ges. **22**, 296—303 (1904). FISCHER, A.: Untersuchungen über das Siebröhrensystem der Cucurbitaceen. Berlin: Bornträger 1884. 109 S. — FLOT, H.: Recherches sur la structure comparée de la tige des arbres. Rev. gén. Bot. **2**, 17 (1890). Zit. nach HELM. — Recherches sur la zone périmedullaire de la tige. Ann. Sci. nat., 7e sér., **18**, 37 (1893). Zit. nach HELM. — GÉRARD, R.: Recherches sur le passage de la racine à la tige. Ann. Sci. nat., 6e sér., **11** (1881). Zit. nach HELM. — GROOVE, D.: Entwicklungsgeschichte des Leitbündelsystems in der Sproßachse von Vicia faba. Staatsex.arb. Freiburg i. Br. 1955. — GUTTENBERG, H. v.: Die physiologischen Scheiden. In LINSBAUERS Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. V, 1. Abt., 2. Teil. Berlin: Gebrüder Borntträger 1943. 215 S. — HABERLANDT, G.: Die Entwicklungsgeschichte des mechanischen Gewebesystems der Pflanzen. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1879. 84 S. — Physiologische Pflanzenanatomie, 6. Aufl. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1924. 671 S. — HANSTEIN, J.: Die Milchsaft-

gefäße und die verwandten Organe der Rinde. Berlin: Wiegandt u. Hempel 1864. 92 S. — Helm, J.: Untersuchungen über die Differenzierung der Sproßscheitelmeristeme von Dikotylen unter besonderer Berücksichtigung des Procambiums. Planta (Berl.) **15**, 105—191 (1932). — Holroyd, R.: Morphology and physiology of the axis in Cucurbitaceae. Bot. Gaz. **78**, 1—45 (1924). — Huber, B.: Schnittbetrachtung und räumliche Betrachtung in der pflanzenanatomischen Terminologie. Öst. bot. Z. **102**, 387—392 (1955). — Kaan-Albest, A. v.: Anatomische und physiologische Untersuchungen über die Entstehung von Siebröhrenverbindungen. Z. Bot. **27**, 1—94 (1934). — Koch, L.: Über den Bau und Wachstum der Sproßspitzen der Phanerogamen. I. Die Gymnospermen. Jb. wiss. Bot. **22**, 491—680 (1891). — Kostytschew, S.: Der Bau und das Dickenwachstum der Dikotylenstämme. Ber. dtsch. bot. Ges. **40**, 297—305 (1922). — Der Bau und das Dickenwachstum der Dikotylenstämme. Beih. bot. Zbl. **40**, 295—350 (1924). — La Cour, L. F.: Improvements in plant cytological technique. II. Bot. Review **13**, 216—240 (1947). — Lance, A.: Sur la structure et le fonctionnement du point végétatif de Vicia faba L. Ann. Sci. nat. Bot., 11e sér., **13**, 301—339 (1952). — Resch, A.: Beiträge zur Cytologie des Phloems. Entwicklungsgeschichte der Siebröhrenglieder und Geleitzellen bei Vicia faba L. Planta (Berl.) **44**, 75—98 (1954). — Weitere Untersuchungen über das Phloem von Vicia faba. Planta (Berl.) **52**, 121 bis 143 (1958). — Reuter, L.: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. In: Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung, Bd. XI/2. Wien: Springer 1955. 131 S. — Rothert, W., u. L. Jost: Gewebe der Pflanzen. In Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Bd. V, S. 1—139. Jena: Gustav Fischer 1934. — Rouschal, E.: Untersuchungen über die Protoplasmatik und Funktion der Siebröhren. Flora **35** (**135**), 135—200 (1941). — Russow, E.: Vergleichende Untersuchungen betreffend die Histiologie der Leitbündelkryptogamen (gekürzter Titel). Mém. Acad. impérial Sci. St. Petersburg, sér. 7, **19**, No. 1. (1873). 194 S. — Rutledge, R. W.: The histological anatomy of the hypokotyl of Cucurbita maxima Duchesne. Unpublished Ph. D. Diss., Department of Botany, University of Chicago. 1930. Zit. nach Whiting 1938. — Sachs, J.: Über das Auftreten der Stärke bei der Keimung ölhaltiger Samen. Bot. Ztg **17**, 177—188 (1859). — Über die Anordnung der Zellen in jüngsten Pflanzenteilen. Arb. bot. Inst. Würzburg **2** (1879). — Sanio, K.: Über endogene Gefäßbündelbildung. Bot. Ztg **22**, 193—231 (1864). — Schüepp, O.: Meristeme. In Handbuch der Pflanzenanatomie von Linsbauer, Bd. IV, 1. Abt., 2. Teil. Berlin: Gebrüder Borntträger 1926. 114 S. — Sigmund, A.: Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte der Gefäßbündel bei Cucurbita. Staatsex.arb. Freiburg i. Br. 1957. — Thoday, D.: On the organisation of growth and differentiation in the stem of sunflower. Ann. Bot. **36**, 489—510 (1922). — Troll, W., u. W. Rauh: Das Erstarkungswachstum krautiger Dikotylen, mit besonderer Berücksichtigung der primären Verdickungsvorgänge. S.-B. Heidelberg. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. **1950**. 86 S. — Wanner, H.: Phosphataseverteilung und Kohlehydrattransport in der Pflanze. Planta (Berl.) **41**, 190—194 (1952). — Weiling, F.: Farbenphotographie und Artkreuzungen bei Pflanzen. Photogr. u. Wiss. **3**, 23—27 (1954). — Über die interspezifische Kreuzbarkeit verschiedener Kürbisarten. Züchter **25**, 33—57 (1955). — Weiss, J. E.: Markständige Bündelsysteme. Bot. Zbl. **3**, 280—414 (1883). — Whiting, A. G.: Development and anatomy of primary structures in the seedling of Cucurbita maxima. Bot. Gaz. **99**, 497—528 (1938). — Zimmermann, A.: Die Cucurbitaceen. Beiträge zur Anatomie, Physiologie, Morphologie, Biologie, Pathologie und Systematik. Jena: Gustav Fischer 1922. Heft I, 204 S., Heft II 185 S.

Doz. Dr. A. Resch,
Botanisches Institut der Universität, Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9

Planta, Bd. 52, S. 516—527 (1959)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven

KERNAKTIVITÄT BEI AUFGEHOBENER PHOTOSYNTHESE*

Von

J. und Ch. Hämmerling

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 29. September 1958)

I. Einleitung

Bekanntlich besteht bei kernlosen Teilen der photosynthetisierenden einkernigen *Acetabularia* ein apikal-basales Gefälle der Wuchsfähigkeit: kernlose Teile aus der vorderen Region haben das stärkste Regenerationsvermögen, während es bei Teilen aus der hinteren Region ± 0 ist (Hämmerling 1934, 1953; Hämmerling et al. 1958). Diese Unterschiede werden nach allen Erfahrungen durch den Gehalt an kernabhängigen „morphogenetischen (formbildenden) Substanzen" bedingt, der ebenfalls einem apikal-basalen Konzentrationsgefälle folgt (nicht einem umgekehrten basal-apikalen Gefälle, wie kürzlich irrtümlich referiert wurde, Brachet and Chantrenne 1956, Chantrenne 1958). Diese Substanzen sind notwendig, damit es zum Auswachsen des Stieles sowie zur Bildung von Wirteln und Hüten kommt. Die Wuchsleistung eines kernlosen Zellteiles hängt dabei von der Menge der morphogenetischen Substanzen ab, die im Augenblick der Entfernung des Kernes vorhanden waren (Hämmerling 1934, Beth 1953, Hämmerling et al. 1958). Die nicht wachsenden Hinterstücke unterscheiden sich von den gut wachsenden Vorderstücken auch in anderer Hinsicht, jedoch haben diese Unterschiede nichts mit der Wuchsfähigkeit oder -unfähigkeit zu tun (Hämmerling et al. 1958). — Die Wuchsleistungen einer Zelle sind zugleich morphogenetische Prozesse; denn jede Zelle wächst in einer art- oder gewebespezifischen Gestalt heran. Da wir es im folgenden jedoch nicht unmittelbar mit Problemen der Morphogenese zu tun haben, soll nur von Wachstum die Rede sein, die Bezeichnung „morphogenetische Substanzen" aber beibehalten werden.

Kernlose Hinterstücke werden zu Vorderstücken, wenn das Rhizoid mit dem Kern zunächst an ihnen belassen wird oder wenn sie auf ein Rhizoid transplantiert werden. Nach Entfernung des Rhizoides, d. h. des Kernes, regenerieren sie dann, z. T. sogar besser als normale Vorderstücke (Hämmerling 1934, Richter 1959). In solchen Teilen sind also *unter dem Einfluß des Kernes* morphogenetische Substanzen

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

synthetisiert worden. Diese Synthese erfolgt bei vorhandener Photosynthese. Um definitiv zu entscheiden, ob sie auf eine *direkte* Kernabhängigkeit zurückzuführen ist, bedarf es eines Experimentes, das die Photosynthese ausschaltet, die Kernwirksamkeit aber erhält. Das einfachste Mittel hierzu bietet die Dunkelheit. Vor allem müßte dieses Experiment auch Auskunft darüber geben, ob die auf das Wachstum der Zelle gerichtete Kernfunktion auch dann noch erhalten bleibt. Das wäre insofern erstaunlich, als in Dunkelheit sowohl die Zelle als ihr Kern sich sofort auf Abbau umstellen oder wenigstens auf Gleichgewicht zwischen Aufbau und Abbau. Denn in Dunkelheit werden das Wachstum (Stich 1951) und die Protein-Netto-Synthese sofort gestoppt (Werz unveröff.), die Aufnahme von anorganischem ^{32}P wird schnell gesenkt, auch wird der Phosphor im Gegensatz zu belichteten Zellen (Hämmerling und Stich 1954) nicht mehr fest eingebaut (Hämmerling unveröff.), der Einbau von ^{32}P in die Polyphosphatgrana (Stich 1955) und in die RNS des Nucleolus sinkt sofort stark ab (Stich und Hämmerling 1953; Hämmerling und Stich 1956a, 1956b), der Einbau von Glycin nimmt ab (Brachet et al. 1955). Später verschwinden die Polyphosphatgrana und — was in unserem Zusammenhang besonders wichtig ist — der Kern und seine Nucleolen verkleinern sich sehr stark, die letzten werden bis auf einen kleinen runden Nucleolus abgebaut. Alle diese Änderungen sind über einen langen Zeitraum reversibel (Stich 1951, 1956; Hämmerling 1957), auch dann noch, wenn im extremsten Falle zum Schluß nur eine winzige Menge Zellplasma und der Kern am Leben geblieben sind (Hämmerling unveröff.).

Auf diesen Befunden und Überlegungen beruht der im folgenden beschriebene Versuch, über den an anderer Stelle schon kurz berichtet wurde (Hämmerling und Stich 1956b, Hämmerling et al. 1958). Amputiert man eine große Zelle bis auf ein Hinterstück mit 1 cm Stiel über dem Rhizoid und bringt dieses kern*haltige* Hinterstück ins Dunkle, so sollte dieses, falls die Kernaktivität nicht aufgehoben ist, wuchsfähig werden. Solange das Teilstück verdunkelt bleibt, könnte die neu erworbene Fähigkeit nicht realisiert werden. Nach Abtrennung des Rhizoides müßte aber das nunmehr kernlose Hinterstück, wieder ans Licht gebracht, regenerieren (Abb. 1).

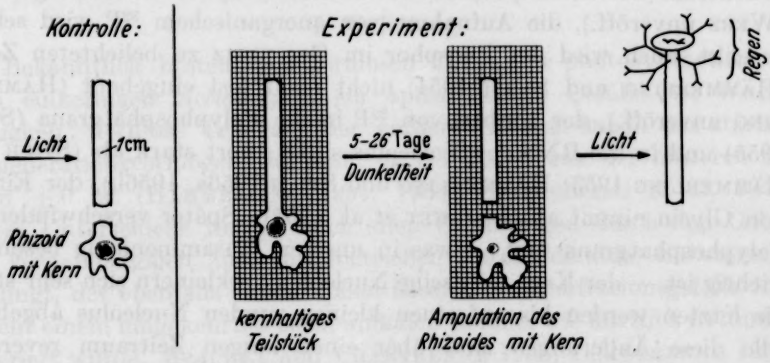
II. Beschreibung der Versuche

Versuchsobjekt war *Acetabularia mediterranea*, die Temperatur betrug 21 bis 22° C, die Belichtung an künstlichen Sonnen 12 Std täglich ~2500 Lux (Leuchtstoffröhren Philips TL 20 W 29, Warmton), Medium Erd-Schreiber-Lösung (Hämmerling 1944, Beth 1953). Die denkbar einfache, in Abb. 1 wiedergegebene Versuchsanordnung geht schon aus dem Gesagten hervor. Als Ausgangspflanzen wurden in zwei Serien solche kurz vor der Hutbildung, in einer weiteren Serie Zellen mit großen oder maximalen Hüten ausgewählt. Sie wurden 1—1,2 cm über

dem Rhizoid amputiert und sofort dunkel gestellt. Nach einer Verdunkelung von 5—26 Tagen wurden die Zellteile zunehmend blaß bis auf eine Verdichtung von Chloroplasten im Rhizoid und am freien Ende des Stieles. Dieser wurde nach den in den Tabellen angegebenen Verdunkelungszeiten in möglichst geringem Licht schnell dicht über dem Rhizoid abgeschnitten und entweder sofort oder nach eintägigem Aufenthalt im schwachen Tageslicht an die künstliche Sonne gebracht. Die Regeneration begann im Durchschnitt nach 2—3 Tagen. Am 3. Tage bildeten sich häufig schon Wirtel.

III. Ergebnisse

1. Betrachtet man die Leistungen der erst verdunkelten kernhaltigen, dann kernlos gemachten und wiederbelichteten Teile gegenüber



±kein	kein	starkes
	Wachstum	
schwache	keine	starke
	Proteinzunahme	

Abb. 1. Versuchsanordnung mit Angabe der Ergebnisse in allgemeiner Form

denen der unverdunkelten Kontrollen, so sind sie außerordentlich hoch. Unter Leistung sind dabei die Häufigkeit des Auswachsens, die Länge des neugebildeten Stieles sowie die Zahl der Wirtel und Hüte zu verstehen (Tabellen 1—3). Die Wirtel waren meist typisch. Von den Hüten wurden nur die typischen bis noch typischen verwertet; daneben wurden selten Kümmerhüte gebildet, die eine minimale, zu vernachlässigende Leistung darstellten. Die nach Beendigung der jeweiligen Verdunkelungszeit amputierten Rhizoide regenerierten normal, besaßen also den Kern. Somit hatten die kernlosen Hinterstücke während der Dunkelphase ein Wuchsvermögen erworben, das sie vorher nicht besessen hatten.

Der Stielzuwachs sowie die Zahl der gebildeten Wirtel der in Tabelle 1 und 2 wiedergegebenen Versuche bewegten sich ungefähr in der Größenordnung der in beiden Serien zum Vergleich hergestellten kernlosen Vorderstücke derselben Pflanzen. Diese ($n = 101$) wurden gleichfalls

Tabelle 1. *Ausgangszellen 2,9—3,5 cm lang, noch ohne Hüte*

Kernhaltige Teile 7 und 11 d verdunkelt (links). Ihre Endleistungen nach Entkernung und Wiederbelichtung (rechts). Die geringeren Leistungen der in Reihe 4 wiedergegebenen Teile gegenüber Reihe 3 dürften auf der kürzeren Stiellänge beruhen.

	n	Stiellänge cm	Regeneriert %	Stielzuwachs cm/Teil	Wirtel %	Hüte %
0 d dunkel . . (Kontrolle	59	1,22	33[2]	0,1	3	0
7 d dunkel . .	43 (44)[1]	1,19	95	0,26	65	14
11 d dunkel . .	42 (42)	1,19	97	0,26	85	8
11 d dunkel . .	41 (41)	1,01	95	0,17	50	2

[1] Zahlen in Klammern = Zahl der Teile bei Beginn der Verdunkelung, daneben ohne Klammer die bei Versuchsende übrig gebliebenen Teile.

[2] Bei den Kontrollen wurden auch diejenigen Teile als regenerierend protokolliert, bei denen nur ein minimales Vorquellen der Protoplasten aus den Schnittflächen erfolgte. Der faktische Wert ist also geringer.

Tabelle 2. *Ausgangszellen 3—5 cm lang, ohne Hüte (andere Nachzucht als Tabelle 1)*

Kernhaltige Teile 5—26 Tage verdunkelt (links). Ihre Endleistungen nach Entkernung und Wiederbelichtung (rechts). Die Abnahme der Leistung nach 16 d und 26 d Verdunkelung dürfte an Schädigung durch die Dunkelhaft liegen [vgl. *n* zu Anfang (Zahlen in Klammern) und Ende des Versuches].

	n	Stiellänge cm	Regeneriert %	Stielzuwachs cm/Teil	Wirtel %	Hüte %
0 d dunkel . . (Kontrolle)	61	1,22	<30	0,10	2	2
5 d dunkel . .	50 (50)	1,0	70	0,21	66	14
11 d dunkel . .	46 (50)	1,0	83	0,24	91	22
16 d dunkel . .	48 (60)	1,0	58	0,13	33	4
26 d dunkel . .	24 (50)	1,0	—	0,18	33	0

eine entsprechend lange Zeit (5—26 Tage) verdunkelt und dann ans Licht gebracht (vgl. hierzu auch BRACHET et al. 1955, HÄMMERLING 1957). Die Hutbildung war allerdings bei den Vorderstücken wesentlich häufiger. Hierbei ist jedoch erstens zu bedenken, daß ihre Ausgangslänge 1,5 cm betrug; kürzere 1 cm lange Teile hätten erheblich geringere Hutbildung besessen. Zweitens waren in den Vorderstücken die zur Hutbildung führenden Prozesse schon soweit abgelaufen, daß sie auch ohne Entfernung des Kernes sehr bald einen Hut gebildet hätten. Die Hinterstücke mußten dagegen während der Dunkelheit erst die entsprechende Menge an „Hutbildungsstoffen" erhalten.

2. Vergleicht man die Leistungen innerhalb der einzelnen Serien nach verschieden langen Verdunkelungszeiten, so erkennt man einen beträchtlichen Anstieg. Die 5 oder 7 Tage verdunkelten Teilstücke leisten

bereits sehr viel, die 11tägigen noch mehr, vielleicht mit Ausnahme der in Tabelle 1, Reihe 3 wiedergegebenen Serie, bei der zwar eine Steigerung der Wirtelzahl, jedoch eine Abnahme der Hutzahl festzustellen ist. Ob diese signifikant ist, bleibt dahingestellt; jedenfalls erfolgte keine Zunahme. Nach 16 Tagen Dunkelheit war in einer Serie eine weitere Steigerung bemerkbar (Tabelle 3, Reihe 4), in einer zweiten Serie eine Abnahme nach 16 und 26 Tagen Verdunkelung. In diesem Falle dürfte eine Schädigung durch die Dunkelhaft vorgelegen haben (Tabelle 2).

3. Die Serie, die von Pflanzen mit maximalen Hüten stammte, verhielt sich gleichsinnig wie die beiden Serien, für die kurz vor der Hutbildung stehende Pflanzen verwendet wurden. Die absoluten Leistungen waren jedoch geringer (Tabelle 3, Reihe 1—4).

Tabelle 3. *Reihe 1—4. Ausgangspflanzen mit maximalen Hüten* ($\varnothing \cong 0{,}8$ cm)

Kernhaltige Teile 5, 11, 16d verdunkelt (links). Ihre Endleistungen nach Entkernung und Wiederbelichtung (rechts). Steigerung der Leistung auch noch nach 16d Dunkelheit. Reihe 5: Ausgangspflanzen derselben Nachzucht mit kleineren Hüten, $\varnothing = 0{,}5$ cm; wahrscheinlich darauf die größere Leistung gegenüber der anderen 16d-Serie beruhend.

	n	Stiellänge cm	Regeneriert %	Stielzuwachs cm/Teil	Wirtel %	Hüte %
0d dunkel . . (Kontrolle)	66	1,02	12	0,01	3	0
5d dunkel . .	64 (64)	1,00	67	0,08	25	2
11d dunkel . .	51 (60)	1,00	71	0,13	50	2
16d dunkel . .	34 (50)	1,01	76	0,15	76	0
16d dunkel . .	32 (45)	1,01	84	0,18	94	0

Dieser Unterschied läßt sich vorläufig auf folgende Weise verstehen. Die Leistung eines Teilstückes wird von der (meist unterschwelligen) Menge der morphogenetischen Substanzen abhängen, die bei Verdunkelungsbeginn im Stiel vorhanden waren, zusätzlich der Menge, die während der Verdunkelung dazu kam. Aus den früheren Versuchen war aber zu schließen, daß die Ausgangsmenge in Pflanzen mit maximalem Hut erheblich geringer ist als in jüngeren Stadien (Hämmerling 1934). Auf die gleiche Ursache dürfte es zurückzuführen sein, daß schon Teile, die von Zellen mit nur 5 mm großen Hüten stammten, also vermutlich einen höheren Ausgangsspiegel an morphogenetischen Substanzen enthielten, bessere Leistungen aufwiesen als die gleichlangen Teile von Zellen mit maximalem Hut (Tabelle 3 letzte und vorletzte Reihe). Auch daß kürzere Teile weniger leisteten als längere Teile gleich weit entwickelter Ausgangspflanzen, fügt sich vorläufig dieser Deutung ein: sie enthalten bei Beginn der Verdunkelung weniger morphogenetische Substanzen (Tabelle 1, die beiden letzten Reihen; weitere Versuche mit noch kürzeren Teilen ergaben weitere Senkung der Leistung). Ob bei den von Zellen mit maximalem Hut stammenden Teilen noch eine an sich geringere Aktivität des Kernes gegenüber jüngeren Stadien hinzukommt, ist nicht entscheidbar.

4. *Zusätzliche Kontrollen.* Zum Nachweis, daß nicht die Verdunkelung an sich eine vermehrte Leistungsfähigkeit erzeugt, wurden außer

den in Tabelle 1—3 angeführten Kontrollen entsprechend lange verdunkelte kernlose Hinterstücke mit solchen verglichen, die gleich ans Licht gebracht wurden. Ihre Regenerationsfähigkeit war unverändert minimal: 53 sofort belichtete Teile von 1 cm Länge hatten nach 14 Tagen nur einen durchschnittlichen Zuwachs von 0,02 cm und bildeten einen einzigen Kümmerhut. 57 1 cm lange Teile, die vor der Belichtung 5 Tage dunkel gehalten wurden, zeigten nach 14 Tagen nur 0,01 cm Längenzuwachs und 1 Wirtelbildung. Beide Serien stammten von kurz vor der Hutbildung stehenden Pflanzen der gleichen Nachzucht.

Weiter sei angeführt, daß 1,52 cm lange, gleich belichtete Hinterstücke ($n = 27$) der zu Tabelle 3 gehörigen Serie keine nennenswerte Leistungssteigerung gegenüber den 1,02 cm Kontrollen aufwiesen. Selbst von 24 2 cm langen Hinterstücken, die zur Nachzucht der Tabelle 1 gehörten, regenerierten nur 3 Teile je einen Wirtel. Diese Kontrollen mit besonders langen Hinterstücken wurden zugleich in Hinblick auf die Möglichkeit gemacht, daß der Kern in Dunkelheit gar keine morphogenetischen Substanzen produziert, sondern nur im Rhizoid gespeicherte Stoffe während der Dunkelperiode in den Stiel einwandern würden. Wegen des von vorn nach hinten abnehmenden Konzentrationsgefälles der morphogenetischen Substanzen sollten im Rhizoid nicht mehr dieser Substanzen gespeichert sein als in langen Hinterstücken.

5. *Speicherung im Rhizoid?* Sollte trotz der vorstehenden Befunde die große Wuchsfähigkeit der Versuchsteile auf Einwanderung nur gespeicherter morphogenetischer Substanzen aus dem Rhizoid in den Stiel beruhen, so müßte entgegen aller Wahrscheinlichkeit die Annahme gemacht werden, daß die Menge der gespeicherten Substanzen, die im hinteren Stielende sehr gering ist, sich im Rhizoid wieder stark erhöhe, und zwar so, daß das Rhizoid einen ähnlich großen Speicher enthielte wie die vordere, etwa 1 cm lange Stielregion. Zur direkten Entscheidung wurden zwei zusätzliche Versuche gemacht.

a) Rhizoidunterteilung. Schon früher war festgestellt worden, daß bei Unterteilung des Rhizoides die kernlosen Rhizoidteile nicht regenerieren, auch dann nicht, wenn nur eine kleine, aber den Kern enthaltende Partie fehlt. Dabei war gleichgültig, ob dem kernlosen Rhizoid ein Stielstück belassen wurde oder nicht (HÄMMERLING 1932 und weitere unveröff. Versuche). Kernhaltige Rhizoidteile dieser Art dagegen regenerieren vollkommen. Dieser Versuch wurde als Kontrollversuch mit Verdunkelung wiederholt, um die an sich unwahrscheinliche Möglichkeit auszuschalten, daß im Rhizoid gespeicherte Stoffe gerade oder nur bei Dunkelheit nach vorn wandern. Es wurden also von Rhizoiden mit 1 cm Stiel sehr kleine Ästchen, in denen sich eventuell der Kern befinden konnte, abgetrennt, mit dem Ziel, ein kernloses möglichst großes Rhizoidteil mit 1 cm Stiel zu gewinnen. Diese Teile wurden nach der beschriebenen

Versuchsanordnung 7 Tage verdunkelt und dann nach Amputation des an ihnen verbliebenen Rhizoidteiles wieder belichtet. Es zeigte sich, daß von kernlosen Rhizoiden stammende Hinterstücke kein Regenerationsvermögen erworben hatten, ebensowenig wie die kernlosen Rhizoide selbst. Die Kernlosigkeit war daran zu erkennen, daß die zuvor abgeschnittenen Ästchen normal regenerierten, also sie den Kern enthielten. Das war 5mal der Fall.

In 25 anderen Fällen regenerierten die zuerst abgetrennten Ästchen nicht, dagegen das Hinterstück, ebenso der größere nach Ende der Verdunkelung von ihm abgetrennte Rhizoidteil, der also den Kern enthielt. Die Zahl der Versuchsteile, in denen der Kern nicht in dem zuerst abgetrennten Ästchen enthalten war, ist deshalb größer, weil der Ast, in dem sich der Kern befindet, von außen meist nicht erkennbar ist, so daß die Aussicht, ihn abzutrennen, gering ist.

b) Doppelte Regeneration. Als weitere Kontrolle wurden kernhaltige Hinterstücke nach 7—20tägiger Dunkelheit amputiert und ein neues kernloses Hinterstück einer normal am Licht gehaltenen noch hutlosen Pflanze auf das Rhizoid transplantiert, das Transplantat sofort wieder dunkel gestellt. Nach 7 weiteren Tagen wurde das auftransplantierte Stück abgeschnitten und seine Regenerationsfähigkeit am Licht gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4. *Ausgangspflanzen kurz vor Hutbildung*

Kernhaltige Hinterstücke, teils unter, teils über 1 cm lang, verdunkelt — Serie I 7 Tage, Serie II 11 Tage, Serie III 20 Tage lang — danach das Rhizoid mit kurzem Stiel amputiert und auf dieses ein kernloses Hinterstück transplantiert (links). Dieses nach weiteren 7 Tagen Dunkelheit amputiert und wiederbelichtet. Die Endleistungen dieser Teile (rechts). (Die bei der ersten Amputation erhaltenen kernlosen Teile regenerierten nach Wiederbelichtung ebenfalls gut.)

	n	Stiellänge cm	Regeneriert %	Stielzuwachs cm	Wirtel %	Hüte %
Serie I	14	1,12	86	0,14	78	36
Serie II	24	1,19	92	0,11	79	25
Serie III . . .	5	1,20	80	0,10	40	40

Man sieht, daß auch in den auftransplantierten Stücken nochmals eine starke Regenerationsfähigkeit induziert wird, so stark, daß sie nicht mit der Einwanderung aus dem Rhizoid erklärt werden könnte. Die gespeicherten Stoffe müßten sich nach Entnahme durch den ersten Versuch soweit verdünnt haben, daß eine weitere starke Einwanderung in das neutransplantierte Stück höchst unwahrscheinlich wäre. Dagegen ist es nach den in Tabelle 1—3 wiedergegebenen Ergebnissen verständlich, daß der Kern seine Aktivität ziemlich lange in Dunkelheit aufrechterhalten kann. Wie Tabelle 4 zeigt, ist die Leistung bei der zweiten Regeneration sogar auffallend hoch, besonders in den ersten beiden

Serien. Hier wäre an die Möglichkeit zu denken, daß die Aktivität des Kernes wieder erhöht wurde, und zwar dadurch, daß ihm Energiebeträge und Baustoffe durch das transplantierte lebensfrische Stielstück zugeführt wurden. Nähere Aufklärung könnten vielleicht Untersuchungen über die Kerngrößen bringen.

IV. Diskussion

1. Wie in der Einleitung geschildert, werden bei Aufhebung der Photosynthese durch Verdunkelung Wachstum und Proteinzuwachs gestoppt, in anderen Prozessen wird die Zelle sofort auf Abbau umgeschaltet, was besonders für den Kern einschließlich seiner Nucleolen gilt. Trotzdem aber behält der Kern eine seiner wichtigsten Funktionen, die für die Wuchsfähigkeit der Zelle, bei. Denn vorher ± nicht wuchsfähige Stielteile haben in Dunkelheit die Fähigkeit zum Wachstum erworben, wie isch nach ihrer Wiederbelichtung zeigt. Dieses Verhalten des Kernes ist erstaunlich und beweist die große Unabhängigkeit der in ihm dabei wirksamen Prozesse von den übrigen im Cytoplasma und zum Teil vielleicht auch im Kern selbst ablaufenden Prozessen. Diese Unabhängigkeit ist um so auffälliger, als bei belichteten Zellen und ihren Teilen eine quantitative Abhängigkeit der Aktivität des Zellkernes von der Aktivität des Cytoplasmas und umgekehrt besteht, und zwar gerade auch hinsichtlich des Wachstums der Zelle, d. h. der Produktion morphogenetischer Substanzen (Hämmerling 1958, Hämmerling und Werz 1958). Dieser Gegensatz bedeutet jedoch keinen Widerspruch. Er zeigt, daß diejenigen Prozesse im Zellkern, die zur Produktion oder Abgabe morphogenetischer Substanzen führen, nicht zur Voraussetzung haben, daß alle übrigen bei Licht im Cytoplasma und Kern verlaufenden Prozesse tatsächlich dauernd ablaufen müssen.

Die Aktivität des Kernes ist so hoch, daß innerhalb von 2 Wochen anscheinend ungefähr so viele morphogenetische Substanzen in das Cytoplasma gelangen, wie in einem gleichlangen Vorderstück einer noch hutlosen Zelle gespeichert sind (S. 518 u.). In den Vorderstücken ist aber die Speicherung das Resultat zwischen Verbrauch und Nachlieferung. Wenn also die Aktivität des Kernes in Dunkelheit auch hoch ist, so bleibt nach den hier geschilderten Versuchen noch offen, ob sie gegenüber den belichteten kernhaltigen Zellen und ihren Teilen quantitativ nicht doch gesenkt ist. (Zur Frage qualitativer Änderungen siehe 3.)

2. Nach den Befunden ist es sicher, daß in Dunkelheit aus dem Kern eine Substanz oder auch ein Substanzgemisch an das Cytoplasma abgegeben wird, dessen Gegenwart im Cytoplasma nötig ist, damit es zum Wachstum kommt. In diesem Sinne besteht also strengste direkte Kernabhängigkeit [vgl. hierzu die gleichsinnig zu deutenden, mit anderer Methode erhaltenen Ergebnisse von Beth (1953)]. Gegenwärtig sind

diese Substanzen die einzigen, für welche diese Aussage wirklich begründet ist (Hämmerling et al. 1958).

Die Abgabe des Kernproduktes erstreckt sich weiterhin über längere Zeit, so daß die Endleistung des wiederbelichteten Stielteiles von der Menge des in Dunkelheit ungenützt liegenden Kernproduktes abhängt. Hierdurch bestätigt sich ebenfalls definitiv, daß die Wuchsleistung eines kernlosen Teiles durch die Ausgangsmenge irgendwelcher wachstumsinduzierender Substanzen begrenzt wird, denen wir aus den in der Einleitung angeführten Gründen die Bezeichnung „morphogenetische Substanzen" gegeben haben.

Da die mit den gegenwärtigen Methoden *meßbaren* Proteine und Ribosenucleinsäure (RNS) diese Bedingung nicht erfüllen — sehr kurze Vorderstücke mit sehr geringem Ausgangsgehalt an diesen Substanzen haben eine weit höhere Wuchsleistung als lange Hinterstücke mit großem Ausgangsgehalt, außerdem nehmen beide in Dunkelheit ab (Werz unveröff., Richter 1959), die morphogenetischen Substanzen dagegen zu —, so können diese Substanzen, die ja beide auch im Kern vorkommen, nicht an das Cytoplasma abgegebene morphogenetische Substanzen sein oder dort zu ihrer Bildung führen. Das ist von Errera und Vanderhaeghe (1957), welche dahingehende Vermutungen für die RNS geäußert haben, übersehen worden. Etwas ganz anderes ist die Frage, ob mit den gegenwärtigen Bestimmungsmethoden nicht faßbare RNS- und Proteinfraktionen das in das Cytoplasma austretende Kernprodukt sind. Diese Möglichkeit ist an sich natürlich durchaus gegeben. Jedoch würde der Nachweis, daß Proteine (vielleicht Enzyme oder ihre Vorstufen) oder RNS aus dem Kern an das Cytoplasma abgegeben werden — für die Diskussion dieser bei *Acetabularia* und auch anderen Objekten noch offenen Frage vgl. Hämmerling et al. (1958), Plaut (1958), Richter (1959) — an sich nicht ausreichen, um ihnen den Charakter morphogenetischer Substanzen zuzuerkennen. Es müßte dann noch die Bedingung erfüllt sein, daß sie im Cytoplasma entweder selbst in einem apikal-basalen Konzentrationsgefälle angeordnet werden oder zur Entstehung von definitiven morphogenetischen Substanzen führen, welche diese Bedingung erfüllen.

Aus Versuchen von Beth (1953) darf geschlossen werden, daß in Schwachlicht nur Vorstufen von morphogenetischen Substanzen im Cytoplasma entstehen, welche durch Starklicht in ihre aktive Form umgesetzt werden. Ob in Dunkelheit dieselbe Vorstufe entsteht oder eine noch davor liegende, oder ob nur ein primäres Kernprodukt an das Cytoplasma abgegeben wird, das die Synthese einer Vorstufe induziert, bleibt ebenfalls zunächst eine offene Frage.

3. Da die chemische Natur der aktiven morphogenetischen Substanzen und des primären Kernproduktes unbekannt ist, läßt sich die

weitere Frage, wie weit die Aktivität des Kernes in Dunkelheit im Gegensatz zum Licht geht, nur in allgemeinen Begriffen formulieren. Was am Licht abgegeben wird, wird durch die innerhalb des Kernes ablaufenden Synthesen wieder nachgebildet. Sollte das auch in Dunkelheit der Fall sein, so wäre die Realisierung der weitesten Möglichkeit einer Kernaktivität gegeben. Diese dürfte sich dann aber nur über einen beschränkten Zeitraum erstrecken, da ja der Kern und seine Nucleolen immer mehr an Masse abnehmen, was doch wohl bedeutet, daß die Abgabe des Kernproduktes allmählich nicht mehr durch seine Synthese innerhalb des Kernes ausgeglichen würde. Sollte jedoch in Dunkelheit nur noch das fertige, von der Belichtungszeit her vorhandene Kernprodukt abgegeben werden, so wäre die Mindestmöglichkeit an Aktivität realisiert. Zwischen diesen Extremen sind kompliziertere Möglichkeiten denkbar, die hier unerörtert bleiben können. Diese Fragen ändern natürlich nichts an der Tatsache, daß der Kern auch bei aufgehobener Photosynthese der Zelle aktiv bleibt, und zwar mindestens in dem Sinne, daß er unabhängig von den übrigen im Licht ablaufenden Prozessen diejenigen Substanz-Vorstufen an das Cytoplasma abgibt, die dort vorhanden sein müssen, damit die Zelle wachsen kann. Bei Senkung des Stoffwechsels durch Trypaflavin ist wahrscheinlich mehr als die Mindestmöglichkeit realisiert (Werz 1959, folgende Arbeit). Auch die Ergebnisse mit doppelter Regeneration weisen in diese Richtung (Abschnitt Ergebnisse 5b).

4. Ein Hinterstück erwirbt in Dunkelheit bei Anwesenheit des Kernes nicht nur die Fähigkeit zum Wachstum im Sinne von Volumenvergrößerung. Jedes Wachstum von *Acetabularia* ist mit Substanzproduktion, speziell auch mit Protein-Netto-Synthese verbunden (Hämmerling 1958, Hämmerling und Werz 1958). Das Umgekehrte gilt zwar nicht. Auch nichtwachsende, kernlose Teile synthetisieren Proteine. Aber diese Synthese ist in wachsenden Teilen höher (Hämmerling et al. 1958). Auch in den hier geschilderten unter Kerneinfluß wuchsfähig gewordenen Teilen erhöhte sich der Umfang der Proteinsynthese (Abb. 1). Jedoch ist diese Folge sehr wahrscheinlich nicht auf eine besondere spezifische Kernfunktion zurückzuführen, welche diesen Effekt hat, sondern nur als sekundäre Folge der Induktion von Wachstum (Volumenvergrößerung) aufzufassen. Für diese Frage sei auf das Sammelreferat von Hämmerling et al. (1958) verwiesen; weitere Einzelheiten sollen an anderer Stelle mitgeteilt werden (Werz unveröff., Werz u. Hämmerling 1959).

Summary

1. Nucleated parts of the uninucleate green alga *Acetabularia mediterranea* with a 1 cm stalk were darkened. After various darkening periods the rhizoids containing the nucleus were cut off. The now enucleate

stalk parts were re-illuminated. Such parts normally possess no growth power; but now they grew out forming a stalk, whorls, and partly even caps. Consequently, even after stopping photosynthesis the nucleus remained active concerning the control of the processes leading to growth and morphogenesis: it continued to release precursors of the "morphogenetic substances" into the cytoplasm, or a product which leads to the synthesis of these substances within the cytoplasm.

2. The extent of nuclear activity is discussed and compared with the strongly mutual nuclear and cytoplasmic synthetic activities during photosynthesis. The activity of the nucleus of a darkened cell is the more astonishing as all other cellular und nuclear processes come to a standstill; moreover, especially the nucleus itself and its nucleoli decrease in mass.

3. The first step of the synthesis of active "morphogenetic substances" is directly nucleus-dependent.

4. Their operative effect depends on the quantity of the nuclear products being released into the cytoplasm until the moment of enucleation.

Literatur

Beth, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. **8b**, 334—342 (1953). — Brachet, J., and H. Chantrenne: The function of the nucleus in the synthesis of cytoplasmic proteins. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **21**, 329—337 (1956). — Brachet, J., H. Chantrenne et F. Vanderhaeghe: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — Chantrenne, H.: Synthesis of protein and nucleic acid in enucleate cytoplasm. Proc. roy. Soc. B **148**, 332—339 (1958). — Errera, M., et F. Vanderhaeghe: Effets des rayons U. V. sur *Acetabularia mediterranea*. Exp. Cell Res. **13**, 1—10 (1957). — Hämmerling, J.: Entwicklung und Formbildungsvermögen von *Acetabularia mediterranea*. Biol. Zbl. **52**, 42—61 (1932). — Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Nucleo-cytoplasmic relationships in the development of *Acetabularia*. Int. Rev. Cytol. **2**, 475—498 (1953). — Nucleus and cytoplasm in *Acetabularia*. VIII. Congr. Internat. de Botanique, Paris. C. R. Séances et Rapp. et Communic. déposés lors du Congrès dans la Section **10**, 87—103 (1957). — Über die wechselseitige Abhängigkeit von Zelle und Kern. Z. Naturforsch. **13b**, 440—448 (1958). — Hämmerling, J., H. Clauss, K. Keck, G. Richter and G. Werz: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6**, 210—226 (1958). — Hämmerling, J., u. H. Stich: Über die Aufnahme von ^{32}P in kernhaltige und kernlose Acetabularien. I. Z. Naturforsch. **9b**, 149—155 (1954). — Einbau und Ausbau von ^{32}P im Nukleolus (nebst Bemerkungen über intra- und extranukleare Proteinsynthese). Z. Naturforsch. **11b**, 158—161 (1956a). — Abhängigkeit des ^{32}P-Einbaues in den Nucleolus vom Energiezustand des Cytoplasmas, sowie vorläufige Versuche über Kernwirkungen während der Abbauphase des Kernes.

Z. Naturforsch. **11b**, 162—165 (1956b). — HÄMMERLING, J., u. G. WERZ: Über den Wuchsmodus von *Acetabularia*. Z. Naturforsch. **13b**, 449—454 (1958). — PLAUT, W.: Nuclear and cytoplasmic RNA synthesis. Exp. Cell Res. Suppl. **6** (1958). — RICHTER, G.: Die Auslösung kerninduzierter Regeneration bei gealterten kernlosen Zellteilen von *Acetabularia* und ihre Auswirkungen auf die Synthese von Ribonucleinsäure und Cytoplasmaproteinen. Planta (Berl.) **52**, 554—564 (1959). — Die Auswirkungen der Zellkern-Entfernung auf die Synthese von RNS und Cytoplasmaproteinen bei *Acetabularia*. Biochim. et biophys. Acta 1959 (im Druck). — STICH, H.: Experimentelle karyologische und cytochemische Untersuchungen an *Acetabularia mediterranea*. Ein Beitrag zur Beziehung zwischen Kerngröße und Eiweißsynthese. Z. Naturforsch. **6b**, 319—326 (1951). — Synthese und Abbau der Polyphosphate von *Acetabularia* nach autoradiographischen Untersuchungen des ^{32}P-Stoffwechsels. Z. Naturforsch. **10b**, 281—284 (1955). — Änderungen von Kern und Polyphosphaten in Abhängigkeit von dem Energiegehalt des Cytoplasmas bei *Acetabularia*. Chromosoma (Berl.) **7**, 693—707 (1956). — STICH, H., u. J. HÄMMERLING: Der Einbau von ^{32}P in die Nukleolarsubstanz des Zellkernes von *Acetabularia mediterranea*. Z. Naturforsch. **8b**, 329—333 (1953). — WERZ, G.: Weitere Untersuchungen zum Problem der Kernaktivität bei gesenktem Zellstoffwechsel. Planta (Berl.) **52**, 528—532 (1959). — WERZ, G., u. J. HÄMMERLING: Proteinsynthese in wachsenden und nichtwachsenden kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Planta (Berl.) **53** (1959) (im Druck).

J. u. CH. HÄMMERLING,
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven

Planta, Bd. 52, S. 528—533 (1959)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven
(Abteilung Hämmerling)

WEITERE UNTERSUCHUNGEN ZUM PROBLEM DER KERNAKTIVITÄT BEI GESENKTEM ZELLSTOFFWECHSEL

Von

Günther Werz*

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 29. September 1958)

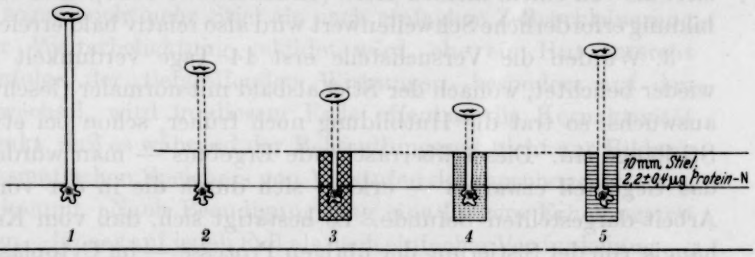
I. Einleitung

Bei Aufhebung der Photosynthese durch Verdunkelung wird das Wachstum (Stich 1951) und die Proteinzunahme der Acetabularienzelle gestoppt (Werz, unveröffentlicht), die Polyphosphatgrana werden abgebaut, und besonders der mit seinen Nucleolen sich stark verkleinernde Kern (Stich 1956) wird auf Abbau umgeschaltet (Hämmerling und Stich 1956a und 1956b). Mindestens ein Prozeß läuft aber weiter und zwar der für die Zellentwicklung wichtigste, zugleich direkt kernabhängige Vorgang: die Abgabe eines Kernproduktes an das Cytoplasma, das im Licht zur Bildung der aktiven morphogenetischen Substanzen führt, die notwendig sind, damit es zum Wachstum der Zelle kommt (J. u. Ch. Hämmerling, 1959, vorstehende Arbeit). Die Versuchstechnik, die zu diesem Ergebnis führte, bestand darin, kernhaltige Teilstücke mit $\sim$ 10 mm Stiel zu verdunkeln, nach einiger Zeit das Rhizoid mit dem Kern zu amputieren und das nunmehr kernlose Stielstück wieder zu belichten. Dieses, das vorher mehr oder weniger wuchsunfähig war, hatte dann ein sehr gutes, bis zur Hutbildung gehendes Wuchsvermögen erworben. Zu denselben Schlußfolgerungen führten mit noch einfacherer Versuchsanordnung ausgeführte Experimente, die im folgenden geschildert werden sollen. Es wurden dabei wieder kernhaltige Hinterstücke mit 10 mm Stiel in Dunkelheit gesetzt. Nach 14 Tagen wurden sie wieder belichtet, der Kern jedoch nicht entfernt, sondern ermittelt, bei welcher Stiellänge die Hutbildung eintrat. Mit der gleichen Methode wurde das Einsetzen der Hutbildung an Teilen geprüft, deren Wachstum reversibel durch Trypaflavin oder *2,4*-Dinitrophenol blockiert war, und zwar ebenfalls 2 Wochen lang. Außerdem wurde an den so vorbehandelten Zellen untersucht, ob eine Beziehung zwischen dem Proteingehalt der Zelle und der Hutbildung besteht.

* Mit persönlicher und sachlicher Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

II. Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten an *Acetabularia mediterranea*. Die allgemeinen Kulturbedingungen waren die gleichen wie in der vorstehenden Arbeit (J. u. Ch. Hämmerling, 1959). Alle Versuche wurden an Zellen der gleichen Anzucht ausgeführt, die Hüte von 2—3 mm Durchmesser und somit einen maximalen Kern besaßen (Beth 1953). Die Stiellängenbestimmungen sind Mittelwerte aus etwa 50 Einzelmessungen. Der Protein-N in Cytoplasma und Plastiden wurde nach der Mikro-Kjeldahl-Methode, Modifikation nach Parnas (1934) bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus jeweils 5—6 Einzelbestimmungen, die untereinander gut übereinstimmten, wie die kleinen mittleren Fehler zeigen.



	1	2	3	4	5
I. Stiellängen mm					
abs.	50,2 ± 2,5	34,4 ± 3,2	26,8 ± 2,4	22,5 ± 2,5	39,7 ± 2,3
rel.	100 %	68 %	53 %	45 %	79 %
II. Gehalt an Protein-N µg/Stiel					
abs.	8,6 ± 0,3	6,3 ± 0,1	4,7 ± 0,1	4,4 ± 0,1	7,0 ± 0,1
rel.	100 %	73 %	55 %	51 %	82 %

Abb. 1. Ergebnisse der Messungen der Stiellängen bei Hutbildung (I) und des Protein-N-Gehaltes (II). *1* Unbehandelte, aus Zygoten aufgewachsene Pflanzen; *2*—*5* auf 10 mm Stiel amputierte große Pflanzen; *2* Normalbedingungen; *3* vor Regeneration 14 Tage Dunkelheit; *4* vor Regeneration 14 Tage Trypaflavin; *5* vor Regeneration 14 Tage Dinitrophenol

Für jede Einzelbestimmung wurden 10—30 Versuchsteile verwendet. Alle Protein-N-Bestimmungen erfolgten an den Versuchsteilen, nachdem sie Stiel, Wirtel und Hüte von 2—3 mm Durchmesser gebildet hatten. Durch Abtrennung des Hutes und Rhizoides wurde der im Augenblick der Hutbildung im Stiel enthaltene Protein-N erfaßt. (Bei größeren Hutdurchmessern nimmt der Proteingehalt im Stiel durch Abwanderung in den Hut ab, Clauss unveröffentlicht.)

III. Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse sind in Abb. 1 wiedergegeben.

1. Unbehandelte, aus Zygoten aufgewachsene Pflanzen der verwendeten Nachzucht bildeten bei etwa 50 mm Stiellänge Hüte.

2. Wurden von bereits huthaltigen Zellen 10 mm lange kernhaltige Hinterstücke hergestellt und normal weiterbelichtet, so wurden bereits bei etwa 34 mm Gesamtstiellänge (also 24 mm Zuwachs) Hüte gebildet. Dies erklärt sich dadurch, daß Hutbildung erfolgt, wenn eine bestimmte Menge morphogenetischer Substanzen gebildet worden ist. Es ist aus den Erfahrungen an kernlosen Zellen bekannt, daß von diesen Substanzen mehr gebildet als beim Wachstum des Systems verbraucht werden

(Hämmerling 1934a; Beth 1953). Für unsere Zwecke ist es dabei unerheblich, ob sich darunter spezielle hutbildende Substanzen befinden (Beth 1943). Diese würden ebenfalls erst einen bestimmten Schwellenwert überschreiten müssen, ehe es zur Hutbildung kommt. Im vorliegenden Falle beginnt die Produktion von einem maximalen bzw. nach einer Verkleinerungsphase bald wieder maximal werdenden Kern aus (Hämmerling 1958). Unter Wirkung eines solchen Kernes werden jedoch am Licht pro Zeiteinheit mehr morphogenetische Substanzen synthetisiert als von einem kleinen Kern (Hämmerling 1957). Der für die Hutbildung erforderliche Schwellenwert wird also relativ bald erreicht werden.

3. Wurden die Versuchsteile erst 14 Tage verdunkelt und dann wieder belichtet, wonach der Stiel alsbald mit normaler Geschwindigkeit auswuchs, so trat die Hutbildung noch früher, schon bei etwa 27 mm Stiellänge ein. Dieses überraschende Ergebnis — man würde zunächst das Gegenteil erwarten — erklärt sich durch die in der vorstehenden Arbeit dargestellten Befunde. Es bestätigt sich, daß vom Kern, unabhängig von der Sistierung der übrigen Prozesse — im Cytoplasma und in ihm selbst —, „Vorstufen" der morphogenetischen Substanzen an das Cytoplasma abgegeben werden. Diese ruhen während der Dunkelphase ungenutzt. Nach Wiederbelichtung werden sie zur aktiven Form umgesetzt oder geben zu deren Synthese Veranlassung, zugleich werden sie weiter produziert. Vom ersten Auswachsen des Stieles an braucht also zu dem gebildeten Speicher nur noch eine relativ geringe Menge morphogenetischer Substanzen hinzuzukommen, um die Hutbildung zu induzieren.

4. Wurden die kernhaltigen Hinterstücke für 2 Wochen mit Trypaflavin (Hoechst, 10^{-3} g/ml Erd-Schreiber-Lösung) behandelt, wobei sie normal weiterbelichtet wurden, und danach in normalem Medium weitergehalten, so bildeten sie den Hut bei noch kürzeren Stiellängen (etwa 22 mm) als bei vorangegangener Verdunkelung. In Trypaflavin werden wie in Dunkelheit Wachstum und Proteinsynthese reversibel blockiert, aber im Gegensatz dazu die Polyphosphatgrana nicht abgebaut, vor allem aber werden auch der Kern und seine Nucleolen nicht verkleinert (Stich 1956; Werz 1957). Die naheliegendste Erklärung ist danach, daß der nicht auf Abbau umgeschaltete Kern stärker aktiv bleibt als in Dunkelheit. Zu der größeren, während der Wuchsblockierung aus dem Kern abgegebenen und gespeicherten Menge an Vorstufen von morphogenetischen Substanzen brauchen also noch weniger neu produzierte Substanzen als in den Dunkelversuchen hinzuzukommen, um die Hutbildung eintreten zu lassen. Umgekehrt läßt sich schließen, daß mit der Umschaltung auf Abbau in Dunkelheit eine Verringerung der Kernaktivität verbunden ist, eine Frage, die in den Versuchen von J. und Ch. Hämmerling (1959) offenbleiben mußte.

5. In *2,4*-Dinitrophenol (10^{-4} g/ml Erd-Schreiber-Lösung) erfolgt an weiter belichteten Zellen wiederum Blockierung des Wachstums (Stich 1956) und der Proteinvermehrung (Werz, unveröffentlicht), dazu wie in Dunkelheit, aber schneller als in dieser, Polyphosphat- und Kernabbau (Stich 1956). Dieser verstärkte Effekt ist darauf zurückzuführen, daß durch Dinitrophenol die oxydativen Phosphorylierungen entkoppelt werden und sekundär auch die Photosynthese blockiert wird (Holzer 1951). Hiernach wird verständlich, daß nach Aufhebung der Dinitrophenoleinwirkung mehr Stiel als nach Verdunkelung und Trypaflavineinwirkung, sogar noch mehr Stiel als nach einfacher Zellverkleinerung bei normaler Weiterbelichtung gebildet wird, ehe ein Hut entsteht (Abb. 1). Infolge der tiefgreifenden Wirkungen, besonders auf den Energiestoffwechsel, wird in diesem Falle offenbar die Kernaktivität so stark gesenkt, daß es während der Behandlungszeit nicht zur Bildung eines cytoplasmatischen Speichers von Vorstufen der morphogenetischen Substanzen kommt. Nach Beendigung mag eine längere Erholungszeit hinzukommen — länger auf jeden Fall als nach einfacher Verdunkelung —, bis die Zelle und der Kern wieder ihren alten Aktivitätsgrad erreicht haben. Es wird in diesem Falle also länger als bei allen anderen Behandlungsarten dauern, bis der zur Hutbildung erforderliche Spiegel morphogenetischer Substanzen erreicht ist.

Zusammenfassend bestätigt sich die große Unabhängigkeit der im Kern ablaufenden und zur Synthese von Vorstufen der morphogenetischen Substanzen führenden Prozesse von den übrigen im Cytoplasma und vielleicht auch im Kern selbst ablaufenden Prozessen. Zusätzlich lassen sich quantitative Unterschiede je nach der Stärke der Wirkung auf den extranucleären Stoffwechsel des Systems erkennen. Auch die Wirkung auf den Kern ist, wie ebenfalls bereits angeführt wurde, unterschiedlich. In Trypaflavin ist eine Veränderung von Volumen und Masse nicht erkennbar, hier ist auch die Intensität der Kernaktivität am größten. In Dunkelheit nehmen Volumen und Masse des Kernes ab, die Kernaktivität ist deutlich geringer. In Dinitrophenol, welches besonders tiefgreifende Wirkungen hat, ist eine Kernaktivität nicht mehr erkennbar. Diese Unterschiede der Kernaktivität geben einen ersten Hinweis, daß zumindest bei Trypaflavinbehandlung die Aktivität des Kernes nicht nur in der Abgabe eines fertigen Kernproduktes an das Cytoplasma besteht, sondern daß dieses selbst noch innerhalb des Kernes in gewissem Umfange synthetisiert wird (vgl. hierzu die Ausführungen in der vorstehenden Arbeit J. u. Ch. Hämmerling 1959).

6. Die Versuche an kernlosen Teilen hatten übereinstimmend ergeben, daß ihre Wuchsleistungen von dem Gehalt an morphogenetischen Substanzen im Augenblick der Entfernung des Kernes abhängen, dagegen weitgehend unabhängig von dem Gehalt an Proteinen und anderen

Zellsubstanzen, ebenso unabhängig von der Zahl der Chloroplasten sind (HÄMMERLING 1934a, b; HÄMMERLING et al. 1958; BETH 1953). Es fragte sich, wie es in dieser Hinsicht bei Gegenwart des Kernes steht und zwar bezogen auf die Hutbildung.

Unter den angewendeten unterschiedlichen Bedingungen erfolgte die Hutbildung bei sehr unterschiedlichen Stiellängen, d. h. da die Stiele der Mutterstücke und die hinzugebildeten Stiele ungefähr gleich dick waren, bei sehr unterschiedlichen Volumina. Es war jedoch denkbar, daß der Proteingehalt der Systeme nicht wesentlich differierte, sondern daß etwa bei der kürzesten Stiellänge (Trypaflavin) die Proteine dichter gepackt waren als bei der längsten (Normalpflanzen aus Zygoten). Dies war jedoch nicht der Fall, vielmehr korrespondierte der Gesamt-Proteingehalt (Cytoplasma und Plastiden) mit den Stiellängen: er war um so größer, je länger der Stiel war (Abb. 1). Innerhalb des untersuchten Bereiches erfolgte also die Hutbildung unabhängig von der Menge der bei Versuchsbeginn vorhandenen wie der zusätzlich synthetisierten Proteine. Diese Unabhängigkeit ist offenbar noch wesentlich größer als sie bei den hier geschilderten Versuchen, bei denen von 10 mm langen Zellteilen ausgegangen wurde, in Erscheinung treten kann. Denn bei *A. Wettsteinii* wurden unter Normalbedingungen an kernlosen, nur 1 mm langen Vorderstücken noch Ansätze zur Hutbildung beobachtet (HÄMMERLING 1934b), an kernhaltigen, stiellosen Rhizoiden wurde bei Starklicht Hutbildung an Zellen erhalten, deren regenerierter Stiel sogar kürzer als 1 mm war (BETH 1955). Der (nicht gemessene) Proteingehalt war also zweifellos noch wesentlich geringer als bei den hier untersuchten *mediterranea*-Teilen. Für die weitere Diskussion dieser Fragen sei auf die vorstehende Arbeit verwiesen (J. u. CH. HÄMMERLING, 1959). — Auch die Chloroplasten sind in den Stielen nicht dichter gepackt, wenn die Hutbildung bei kürzerer Stiellänge erfolgt, d. h. ihre Anzahl ist ebensowenig maßgebend wie die Menge der Proteine.

Summary

1. Nucleated, 1 cm long parts of the uninucleate green alga *Acetabularia mediterranea* form caps with shorter stalk lengths than do cells growing up from zygotes. This is due to the fact that these parts possess a maximum sized nucleus, which, as to the production of "morphogenetic" substances, has a higher activity than a small nucleus.

2. If nucleated, 1 cm long parts are darkened for 14 days and then re-illuminated, cap formation happens at still shorter stalk lengths. This confirms that even if photosynthesis is suspended, the nucleus remains active and continues to release precursors of the morphogenetic substances or of a nuclear product leading to the synthesis of these substances within the cytoplasm (see the preceding paper).

3. After treatment with Trypaflavin, the stalk is still more shortened. This means that the nucleus remains more active in Trypaflavin than in darkness. This finding is in agreement with the fact, that the size of the nucleus and nucleoli is reduced in darkness, but not in Trypaflavin. Probably in Trypaflavin the primary nuclear product released into the cytoplasm continues to be synthesized within the nucleus.

4. In Dinitrophenol the building up of a store of morphogenetic substances cannot be observed. Thus more of the stalk must grow out before a cap is formed. This is apparently due to the strong effect of Dinitrophenol on energy metabolism.

5. Cap formation takes place, if there is a sufficient level of active morphogenetic substances, but it is in wide limits independent of the mass of proteins and chloroplasts.

Literatur

BETH, K.: Ein- und zweikernige Transplantate zwischen *Acetabularia mediterranea* und *Acicularia Schenckii*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **81**, 271 (1943). — Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. **8b**, 334 (1953). — Beziehungen zwischen Wachstum und Formbildung in Abhängigkeit von Licht und Temperatur bei *Acetabularia*. Z. Naturforsch. **10b**, 267 (1955). — HÄMMERLING, J.: Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1 (1934a). — Regenerationsversuche an kernhaltigen und kernlosen Zellteilen von *Acetabularia Wettsteinii*. Biol. Zbl. **54**, 650 (1934b). — Nucleus and Cytoplasm in *Acetabularia*. VIII. Congr. Internat. de Botanique, Paris. C.R. Séances et Rapp. et Communic. déposés lors du Congrès dans la Section **10**, 87 (1957). — Über die wechselseitige Abhängigkeit von Zelle und Kern. Z. Naturforsch. **13b**, 440 (1958). — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6**, 610—626 (1958). — HÄMMERLING, J., u. CH. HÄMMERLING: Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. Planta (Berl.) **52**, 516—527 (1959). — HÄMMERLING, J., u. H. STICH: Einbau und Ausbau von ^{32}P im Nucleolus (nebst Bemerkungen über intra- und extranucleare Proteinsynthese). Z. Naturforsch. **11b**, 158 (1956a). — Abhängigkeit des ^{32}P-Einbaues in den Nucleolus vom Energiezustand des Cytoplasmas, sowie vorläufige Versuche über Kernwirkungen während der Abbauphase des Kernes. Z. Naturforsch. **11b**, 162 (1956b). — HOLZER, H.: Photosynthese und Atmungskettenphosphorylierung. Z. Naturforsch. **6b**, 424 (1951). — PARNAS, J. K.: Biochem. Z. **274**, 158 (1934). Aus HINSBERG-LANG, Medizinische Chemie, 2. Aufl. München u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1951. — STICH, H.: Experimentelle karyologische und cytochemische Untersuchungen an *Acetabularia mediterranea*. Ein Beitrag zur Beziehung zwischen Kerngröße und Eiweißsynthese. Z. Naturforsch. **6b**, 319 (1951). — Änderungen von Kern und Polyphosphaten in Abhängigkeit von dem Energiegehalt des Cytoplasmas bei *Acetabularia*. Chromosoma (Berl.) **7**, 693 (1956). — WERZ, G.: Die Wirkung von Trypaflavin auf Kern und Cytoplasma von *Acetabularia mediterranea*. Z. Naturforsch. **12b**, 559 (1957).

Dr. G. WERZ,
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. HÄMMERLING, Wilhelmshaven, Anton-Dohrn-Weg

Planta, Bd. 52, S. 534—542 (1959)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. Hämmerling, Wilhelmshaven

DAS VERHALTEN DER PHOSPHORYLASE IN KERNHALTIGEN UND KERNLOSEN TEILEN VON *ACETABULARIA MEDITERRANEA*

Von

Heinz Clauss

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 16. Oktober 1958)

Einleitung

Eine der Möglichkeiten zu entscheiden, ob die Proteine im Zellkern oder im Plasma synthetisiert werden, besteht darin, das Verhalten von kernlosem und kernhaltigem Plasma vergleichend zu untersuchen. Experimente dieser Art haben gegenüber Untersuchungen mit Homogenaten und Zellfraktionen den Vorteil, Aufschlüsse über das Zusammenspiel von Zellkern und den übrigen Zellorganellen in vivo zu liefern. Darüber hinaus besteht bei solchen Experimenten die Möglichkeit, die Versuche über einen längeren Zeitraum auszudehnen.

Für Untersuchungen dieser Art wurde von verschiedenen Autoren auf Grund ihrer einzigartigen Vorzüge die zur Familie der Dasycladaceen gehörende marine Grünalge *Acetabularia mediterranea* verwendet (Hämmerling 1934, 1953, 1957, Hämmerling u. Mitarb. 1958, Vanderhaeghe 1954, Werz zit. in Hämmerling 1955, Brachet u. Mitarb. 1955, Clauss 1958, Werz u. Hämmerling 1959). Diese Experimente haben eindeutig ergeben, daß auch zellkernfreie Teile zu einer teilweise sehr beträchtlichen, jedoch zeitlich befristeten Proteinsynthese befähigt sind. Die Ergebnisse stammen bis jetzt zum überwiegenden Teil aus Arbeiten, die sich zunächst nur auf die Bestimmung der Gesamtproteine beschränkten oder in denen nur eine Trennung in Chloroplasten- und die übrigen Zellproteine vorgenommen wurde. Zur Vertiefung unserer Vorstellung über die Art der indirekten „Beteiligung" des Zellkernes an der Synthese der Zellproteine ist es wünschenswert, diese zunächst noch komplexen Fraktionen weiter aufzutrennen. Aus methodischen Gründen gelingt dies am besten durch Untersuchung von einzelnen Enzymen. Erste Befunde hierüber liegen für die Aldolase vor (Baltus zit. in Brachet, Chantrenne u. Vanderhaeghe 1955). Näher untersucht wurden die Fructosidase, sowie die saure Phosphatase (Keck u. Clauss 1958). Hier soll über die Phosphorylase berichtet werden. Für eine Zusammenfassung der angeführten Enzyme sei auf Hämmerling u. Mitarb. (1958) verwiesen.

Material und Methode

Die Versuche wurden mit *Acetabularia mediterranea* aus den hiesigen Kulturen durchgeführt. Die Anzucht der Versuchspflanzen und die Weiterkultur der Teilstücke erfolgte in Erd-Schreiber-Lösung nach den Angaben von HÄMMERLING (1944) und BETH (1953). „Kernlose Zellen" wurden durch Amputation des Rhizoides von jüngeren, erst 15—18 mm langen Zellen und kernlose „Vorderstücke", kernlose „Hinterstücke" und kernhaltige „Hinterstücke mit Rhizoid" von jeweils 10 mm Stiellänge durch Zerschneiden von etwa 30 mm langen Zellen im Stadium „kurz vor der Hutbildung" mittels einer „Weckerschere" hergestellt (s. CLAUSS 1958, Abb. 1). Nach dem Schneiden blieben die Teile zur Erholung etwa $1^1/_2$ Tage im diffusen Tageslicht stehen und wurden dann in den Versuch genommen (Tag 0). Zur Prüfung der Veränderungen der Phosphorylase-Aktivität wurden den Kulturschalen nach verschiedenen Zeiten Proben entnommen und in der unten beschriebenen Weise verarbeitet. Die tägliche Beleuchtung betrug 12 Std (Philips-Warmton-Leuchtstoffröhren TL 20 W/29, etwa 2500 Lux), die Temperatur 21—23° C.

Die von den untersuchten Teilen geleistete Formbildung (d. i. Stielwachstum, Hutbildung und Hutwachstum, HÄMMERLING 1934, 1957) wurde vor jeder Bestimmung durch Messen der Stiellänge und des Hutdurchmessers ermittelt. Nur die kernlosen 15—18 mm-Zellen bildeten keine Hüte. Die kernlosen Hinterstücke regenerierten wie üblich fast keinen Stiel. Die Leistung der Teile entsprach im übrigen dem gewohnten Verhalten, so daß hier auf Abb. 8 und 9 in CLAUSS (1958) verwiesen werden kann.

Phosphorylase-Aktivität: In Homogenaten konnte nach der Zentrifugation sowohl in der Chloroplastenfraktion als auch im Überstand Phosphorylase nachgewiesen werden (s. unten). Deshalb wurde auf eine Fraktionierung des Homogenates verzichtet.

Je nach Zellgröße wurden 50—100 Teilstücke zur Beseitigung des geringen, besonders alten Wirteln anhaftenden Bakterienbesatzes gepinselt. Zur Entfernung des Phosphates der Kulturlösung wurden sie in Seewasser gewaschen und in 4 ml Citrat-Puffer (p_H 6,4; 0,1 m) homogenisiert und dieses Homogenat für die Aktivitätsbestimmung direkt verwendet. Als Maß der Phosphorylase-Aktivität diente der in der Zeiteinheit pro Teilstück aus Glucose-1-Phosphat freigesetzte anorganische Phosphor.

Die Testansätze hatten folgende Zusammensetzung: 1 ml Zellhomogenat, 0,5 ml 4%ige Stärkelösung (lösliche Stärke Merck, aufgekocht in Citrat-Puffer p_H 6,4), 0,5 ml 0,1m Glucose-1-Phosphat (Dikaliumsalz, Böhringer) gelöst in Citrat-Puffer p_H 6,4. Da *Acetabularia* eine saure Phosphatase enthält, wurde zur Abschätzung des durch dieses Enzym (und die Phosphorylase ohne „primer") freigesetzten anorganischen Phosphates in einigen Versuchen Testansätze hergestellt, die an Stelle der 4%igen Stärkelösung 0,5 ml Citrat-Puffer enthielten. Diese Untersuchungen haben gezeigt, daß durch die saure Phosphatase unter den gewählten Bedingungen praktisch kein Ortho-Phosphat freigesetzt wird.

Die Ansätze wurden 2 Std bei 35° C inkubiert. Anschließend wurde durch Zugabe von 0,5 ml 3 m Trichloressigsäure (TCE) die Reaktion abgestoppt und sofort ein vorher ermitteltes Volumen einer 1 m Natriumacetat-Lösung zugegeben, durch die das Reaktionsgemisch zur Verhinderung einer hydrolytischen Spaltung der Glucose-1-Phosphorsäure auf p_H 4,0 gebracht wurde. Im Anschluß an die Zentrifugation (10 min 5000 g) wurde in einem aliquoten Teil des Überstandes das freigesetzte anorganische Phosphat nach LOWRY u. LOPEZ, modifiziert nach EWART u. Mitarb. (1953), bestimmt. Die entstehende Blaufärbung wurde im Photometer „Eppendorf" bei 691 mμ und 1 cm Schichtdicke nach genau 15 min gegen eine Blindprobe gemessen, die durch sofortige Zugabe von TCE zum

Reaktionsansatz erhalten wurde. Der P-Gehalt der Probe wurde einer Eichkurve entnommen und daraus der im Gesamtansatz freigesetzte anorganische Phosphor berechnet. Jeder Kurvenpunkt ist der Mittelwert aus 3 Einzelwerten.

Ergebnisse

1. Änderung der Phosphorylase-Aktivität in kernhaltigen und kernlosen Zellen und in Teilstücken.

a) Kernhaltige und kernlose ganze Zellen, 15—18 mm lang: Sowohl in den kernhaltigen als auch in den kernlosen Zellen erhöht sich die Aktivität sehr stark (vgl. Abb. 1 und Tabelle 1). Die Zunahme weicht in kernlosen Teilen innerhalb der ersten 14 Tage nur wenig von der kernhaltiger Teile ab; danach tritt eine allmähliche Abschwächung ein, die nach etwa 3 Wochen zu einer Sistierung der Aktivitätszunahme führt. Eine Abnahme wurde nicht beobachtet. In den kernhaltigen Zellen steigt die Aktivität linear an. Das Enzym gleicht in diesem Verhalten den cytoplasmatischen Proteinen (CLAUSS 1958).

b) 10 mm lange Teilstücke von etwa 30 mm langen, kurz vor der Hutbildung stehende Zellen: Kernlose „Vorderstücke" und kernlose „Hinterstücke" wurden deshalb einbezogen, weil frühere Untersuchungen ergeben haben, daß sich Vorderstücke sowohl in ihrer Formbildungsfähigkeit (HÄMMERLING 1934, 1953, 1957) als auch in der Synthese von Chloroplasten-Proteinen (CLAUSS 1958), von Reservekohlenhydraten (CLAUSS u. KECK 1959) und Chloroplasten-Farbstoffen (RICHTER 1958, CLAUSS 1958) von Hinterstücken durch ihre erhöhten Leistungen unterscheiden. Dagegen konnte kein Unterschied in der Syntheseleistung

Tabelle 1 u. 2. *Verhalten der Phosphorylase in kernhaltigen und kernlosen ganzen Zellen bzw. Teilstücken*

Untersuchungsperiode: 28 Tage, * = 21 Tage. Alle Angaben in µg P je Pflanze und 120 min.

Tabelle 1

	Kernhaltige Pflanzen		Kernlose Pflanzen	
	Anfangswert	Zunahme	Anfangswert	Zunahme
Vers. 1	0,9	+5,0 (+560%)	0,4	+2,4 (+600%)
Vers. 2	0,7	+4,7 (+670%)	0,6	+1,7 (+280%)

Tabelle 2

	Kernlose Vorderstücke „V"		Kernlose Hinterstücke „H"		Kernhaltige Hinterstücke „RH"	
	Anfangswert	Zunahme	Anfangswert	Zunahme	Anfangswert	Zunahme
Abb. 2a	0,85	+2,2 (+259%)	1,2	+2,4 (+200%)	1,9	+4,6 (+242%)
Abb. 2b	1,25	+1,2 (+96%)	0,8	+1,7 (+212%)	1,3	+3,6 (+277%)*

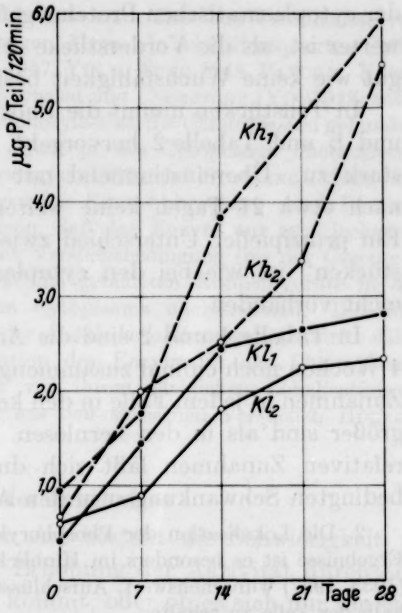
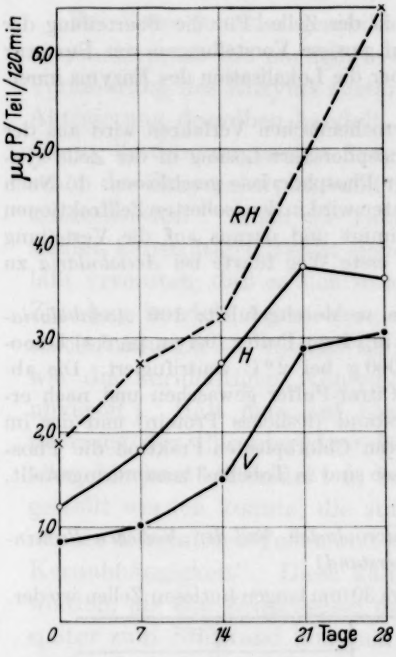
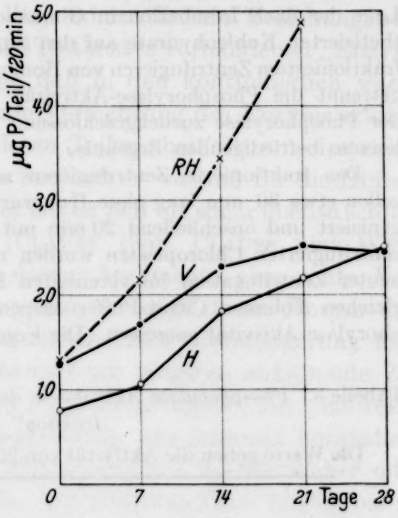


Abb. 1. Die Veränderungen der Phosphorylase-Aktivität in kernhaltigen und kernlosen ganzen Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge innerhalb 28 Tagen. Wiedergabe zweier Versuche mit verschiedenen Nachzuchten. Versuch Nr. 1: ●– – –● kernhaltig (Kh_1); ●———● kernlos (Kl_1). Versuch Nr. 2: ○– – –○ kernhaltig (Kh_2); ○———○ kernlos (Kl_2). Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: Phosphorylaseaktivität. Als Maß der Aktivität ist die Menge des unter den Versuchsbedingungen innerhalb 120 min pro Teilstück aus Glucose-1-Phosphat freigesetzten anorganischen P (µg) angegeben

Abb. 1



a



b

Abb. 2a u. b. Die Veränderungen der Phosphorylase-Aktivität in kernlosen „Vorderstücken" (*V*), kernlosen „Hinterstücken" (*H*) und kernhaltigen „Hinterstücken mit Rhizoid" (*RH*) von 10 mm Ausgangslänge innerhalb 28 Tagen, *RH* Abb. 2b nur 21 Tage. Ausgangszellen etwa 30 mm lang, kurz vor Hutbildung stehend. Abb. 2a u. b Wiedergabe je eines Versuches mit verschiedenen Nachzuchten. ●——● Vorderstück; ○——○ Hinterstück; ×– – –× Hinterstück mit Rhizoid. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: Phosphorylaseaktivität. Als Maß der Aktivität ist die Menge des unter den Versuchsbedingungen innerhalb 120 min pro Teilstück aus Glukose-1-Phosphat freigesetzten anorganischen P (µg) angegeben

der cytoplasmatischen Proteine gefunden werden, was um so bemerkenswerter ist, als die Vorderstücke sehr gute, die Hinterstücke dagegen so gut wie keine Wuchsfähigkeit besitzen (CLAUSS 1958).

In Teilstücken nimmt die Phosphorylase-Aktivität, wie aus Abb. 2a und b und Tabelle 2 hervorgeht, während der Versuchszeit ebenfalls stark zu. Übereinstimmend mit den kernlosen ganzen Zellen treten nach etwa 21 Tagen keine weiteren Aktivitätsänderungen mehr auf. Ein prinzipieller Unterschied zwischen „Vorderstücken" und „Hinterstücken" ist wie bei den cytoplasmatischen Proteinen (CLAUSS 1958) nicht vorhanden.

In Tabelle 1 und 2 sind die Anfangswerte und die Zunahmen nach 4 Wochen noch einmal zusammengestellt. Man sieht, daß die absoluten Zunahmen in jedem Falle in den kernhaltigen Pflanzen bzw. Teilstücken größer sind als in den kernlosen. Das unterschiedliche Verhalten der relativen Zunahmen läßt sich durch die biologisch und methodisch bedingten Schwankungen in den Anfangswerten erklären.

2. Die Lokalisation der Phosphorylase in der Zelle: Für die Beurteilung der Ergebnisse ist es besonders im Hinblick auf gewisse Vorstellungen von BRACHET (1955, 1957) wünschenswert, Aufschlüsse über die Lokalisation des Enzyms innerhalb der Zelle zu erhalten.

Hierzu stehen 2 Wege offen: a) Im cytochemischen Verfahren wird aus der Lage der nach Inkubation in Glucose-1-Phosphorsäure-Lösung in der Zelle synthetisierten Kohlenhydrate auf den Sitz der Phosphorylase geschlossen. b) Nach fraktioniertem Zentrifugieren von Homogenaten wird in den isolierten Zellfraktionen getrennt die Phosphorylase-Aktivität bestimmt und daraus auf die Verteilung der Phosphorylase zurückgeschlossen. Der erste Weg führte bei *Acetabularia* zu keinem befriedigenden Ergebnis.

Das fraktionierte Zentrifugieren wurde so durchgeführt: 100 *Acetabularia*-zellen etwa 30 mm lang ohne Hut wurden in Citrat-Puffer (0,1 m, p_H 6,4) homogenisiert und anschließend 20 min mit 10000 g bei 2° C zentrifugiert. Die abzentrifugierten Chloroplasten wurden mit Citrat-Puffer gewaschen und nach erneuter Zentrifugation im vereinigten Überstand (lösliches Protein) und der im gleichen Volumen Citrat-Puffer suspendierten Chloroplasten-Fraktion die Phosphorylase-Aktivität gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. *Phosphorylase-Aktivität in der Chloroplasten- und der „löslichen Proteinfraktion" (Überstand)*

Die Werte geben die Aktivität von 25 etwa 30 mm langen hutlosen Zellen wieder.

	µg P	
	mit Stärke	ohne Stärke
Chloroplastenfraktion	23,5	4,7
„Lösliche Proteinfraktion" (Überstand)	54,6	9,5

Diesen Werten zufolge scheint unter den angewendeten Versuchsbedingungen etwa $^1/_3$ der Phosphorylase in den Chloroplasten, etwa $^2/_3$ im Cytoplasma „lokalisiert" zu sein.

Die Ergebnisse zeigen, daß bei *Acetabularia* etwa dieselben Verhältnisse vorliegen wie bei höheren Pflanzen und einigen Algen. In ausdifferenzierten Zellen höherer Pflanzen (YIN 1948, YIN u. SUN 1947, YIN u. TUNG 1948, PAECH u. KRECH 1953, KRECH 1953) und bei *Spirogyra*, *Zygnema* und *Cosmarium* (YIN 1948) sowie *Hydrodictyon* (RICHTER 1956) ist die Phosphorylase an die Chloroplasten gebunden. Jedoch scheint dieses Enzym äußerst leicht in das Cytoplasma überzutreten, worauf die Versuche von WEIER u. STOCKING (1952) und STOCKING (1952), und besonders die eingehenden Untersuchungen von KRECH hinweisen. Auch RICHTER (1956) konnte für *Hydrodictyon* bestätigen, daß das Enzym nur sehr locker an die Chloroplasten gebunden ist. Je nach Versuchsbedingung (p_H der Glucose-1-Phosphatlösung) sind bei diesem Objekt die gebildeten Kohlenhydrate in den Chloroplasten, den Pyrenoiden oder im Cytoplasma nachzuweisen. Die hohe Phosphorylase-Aktivität im Cytoplasma der *Acetabularia*-Homogenate dürfte daher nicht grundsätzlich gegen die Lokalisation des Enzyms in den Chloroplasten sprechen. Wie leicht manche Enzyme von ihrem wirklichen Lokalisationsort verschoben werden können, geht auch aus den kritischen Versuchen HOLTERS (1954) an Amöben hervor.

Besprechung der Ergebnisse

Bei Versuchen der geschilderten Art besteht die Schwierigkeit zu entscheiden, ob die nachgewiesene Erhöhung der Aktivität durch eine Vermehrung des Enzyms zustande kommt, oder ob es sich nur um eine Aktivierung desselben handelt. Eine Stütze für die erste Annahme ist die in Verdünnungsserien festgestellte, nahezu lineare Beziehung zwischen der Enzymaktivität und der im Testansatz vorhandenen „Enzymkonzentration". Auch die Tatsache, daß in den kontinuierlich wachsenden kernhaltigen Teilen sicher eine Vermehrung des Enzyms erfolgt, läßt vermuten, daß es sich in kernlosen Teilen ebenfalls um eine echte Zunahme handelt, denn sofern diese wachsen — was nur für die Hinterstücke nicht gilt —, wachsen sie in der ersten Zeit oft sogar ebenso schnell wie die kernhaltigen Kontrollen (CLAUSS 1958, CLAUSS und WERZ unveröff.). Hält man auf Grund dieser Argumente eine echte Vermehrung der Phosphorylase für gegeben, so zeigt dieses Enzym von allen bis jetzt untersuchten, bei denen eine Aktivitätssteigerung festgestellt werden konnte, die stärkste und am längsten anhaltende Zunahme in kernlosen Teilen und damit auch die geringste, nur „indirekte Kernabhängigkeit". Diese kann gegenwärtig nur insoweit konstatiert werden, als alle Zellprozesse nach Entfernung des Kernes früher oder später zum Stillstand kommen. Die Aktivitätszunahme betrug bis zu 600% (15—18 mm-Zellen). Für Fructosidase wurde an ebenso langen Zellen maximal eine Zunahme um 100% gefunden (KECK und CLAUSS 1958), für Aldolase ungefähr um 40% (BALTUS zit. in BRACHET u. Mitarb. 1955, S. 557; eine nähere Mitteilung steht noch aus, auch über Alter und Länge der Ausgangszellen; die Erhöhung bezieht sich auf den 10. Tag, in diesem Zeitraum hatten auch die Gesamtproteine ungefähr um 40% zugenommen).

BRACHET (1955 u. 1957) hat auf Grund des unterschiedlichen Verhaltens der Aktivitäten der von ihm untersuchten Enzyme in kernlosen Amöben die Vermutung geäußert, daß diese Differenzen möglicherweise damit erklärt werden könnten, daß die Enzyme an verschiedenen Orten innerhalb der Zelle lokalisiert sind und daß diese von der Entfernung des Zellkernes in verschiedenem Maße in Mitleidenschaft gezogen werden. Diese Vorstellung, die zunächst nur als Arbeitshypothese zu werten ist — es sind durchaus noch andere Möglichkeiten denkbar —, würde auf die Phosphorylase angewendet bedeuten, daß sie in Zellorganellen lokalisiert ist, die nur sehr indirekt unter der „Kernkontrolle" stehen. Aus den obigen Ausführungen geht hervor, daß diese Organellen wahrscheinlich mit den Chloroplasten identisch sind.

Es fragt sich, ob unter diesem Gesichtspunkt die Ergebnisse über die Synthese der Chloroplastenproteine in kernlosen Zellen und Teilen in Widerspruch zum Verhalten der Phosphorylase stehen (CLAUSS 1958). Die Chloroplastenproteine wurden z. B. in 10 mm langen Hinterstücken im Extremfall nur innerhalb der ersten 7 Tage nach dem Zerschneiden der Zelle synthetisiert. Die Phosphorylaseaktivität steigt aber in diesen Teilstücken bis zu etwa 21 Tagen an. Dies würde bedeuten, daß auch über die erste Woche hinaus in den Chloroplasten noch Proteine gebildet werden[1]. Die Ergebnisse von CLAUSS (1958) werden hierdurch jedoch nicht eingeschränkt, da der auf die Phosphorylase entfallende Proteinanteil gemessen an den übrigen Proteinen nur unerheblich ist. Andererseits erlauben die Befunde eine Erweiterung der Vorstellung über die Synthese der Chloroplastenproteine in kernlosen Teilen. CLAUSS nimmt an, daß die auswachsenden Plastiden nach Erreichen einer bestimmten Größe, die aus inneren Gründen nicht überschritten wird, keine weiteren Proteine bilden (Protein-Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL). Die Versuche über Phosphorylase legen die Vermutung nahe, daß auch maximal große Chloroplasten die Fähigkeit der Synthese von bestimmten Proteinen (Phosphorylase) nicht verloren haben. Sie unterscheiden sich nicht von den „cytoplasmatischen Proteinen", deren Gehalt ebenfalls bis zu etwa 3 Wochen zunimmt (CLAUSS 1958).

Weshalb die Protein-Synthese in kernlosen Systemen schließlich eingestellt wird, ist noch unbekannt. Da nach den Ergebnissen von RICHTER (1957, 1959) und NAORA u. RICHTER (1959) die Ribonucleinsäure (RNS) möglicherweise unter einer direkten „Kernkontrolle" steht, kann damit gerechnet werden, daß die RNS in kernlosen Teilen derartig verändert wird, daß eine weitere Protein-Netto-Synthese unmöglich

[1] Es sei darauf hingewiesen, daß hier zwar gleichartige Teile verglichen werden, die aber von verschiedenen Nachzuchten stammten. Jedoch ist kaum anzunehmen, daß sich die hier verwendeten Nachzuchten wesentlich anders verhielten als die früheren.

wird. Die Tatsache, daß in den Chloroplasten auch nach Beendigung ihres Wachstums noch Phosphorylase gebildet werden kann und diese Synthese dieselbe „Kernabhängigkeit" zeigt wie die der cytoplasmatischen Proteine, würde darauf hinweisen, daß auch die Chloroplasten-RNS gegenüber der cytoplasmatischen RNS keine Sonderstellung einnimmt.

Summary

1. *Acetabularia mediterranea* contains phosphorylase. The activity of the enzyme increases linearly in growing nucleated cells and nucleated cell parts as a function of time.

2. There is a strong increase of phosphorylase activity also in enucleated whole cells and cell parts. This is probably due to a net synthesis of the enzyme which is only indirectly dependent on the nucleus.

3. The increase of activity ceases about three weeks after enucleation. This holds for growing as well as for non growing cell parts.

4. The results concerning the enzyme protein are discussed in connection with the results concerning net protein synthesis after enucleation of *Acetabularia* cells.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Gewährung von Sachbeihilfen gedankt.

Literatur

Baltus, E.: Zit. in J. Brachet, H. Chantrenne u. F. Vanderhaeghe, Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — Beth, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. 8b, 334—342 (1953). — Brachet, J.: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. I. *Amoeba proteus*. Biochim. biophys. Acta **18**, 247 bis 268 (1955). — Biochemical cytology. New York: Academic Press Inc., Publ. 1957. — Brachet, J., H. Chantrenne et F. Vanderhaeghe: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — Clauss, H.: Über die quantitativen Veränderungen der Chloroplasten- und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 334—350 (1958). — Clauss, H., u. K. Keck: Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. Planta (Berl.) **52**, 543—553 (1959). — Ewart, M. H., D. Siminovitch and D. R. Briggs: Studies of the chemistry of living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. Plant Physiol. **28**, 629—644 (1953). — Hämmerling, J.: Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk.

97, 7—56 (1944). — Nucleo-cytoplasmic relationships in the development of *Acetabularia*. Int. Rev. Cytol. **2**, 475—498 (1953). — Nucleus and cytoplasm in *Acetabularia* VIIIe Congr. Intern. de Botanique, Paris 1954; Compt rend. Séances et Rapp. et Communic. déposé lors du Congr. dans la Sect. 10, p. 87—103, 1957. — Hämmerling, J., H. Clauss, K. Keck, G. Richter and G. Werz: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell. Res., Suppl. **6**, 210—226 (1958). — Holter, H.: Distribution of some enzymes in the cytoplasm of *Amoebae*. Proc. roy. Soc. B **142**, 140—146 (1954). — Keck, K., and H. Clauss: Nuclear control of enzyme synthesis in *Acetabularia*. Bot. Gaz. **120**, 43—49 (1958). — Krech, E.: Über die Phosphorylase in höheren Pflanzen. Beitr. Biol. Pflanz. **30**, 379—405. — Lowry, O. H., and J. A. Lopez: The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. J. biol. Chem. **162**, 421—428 (1946). — Paech, K., u. E. Krech: Über die Stärkebildung in den Plastiden. Planta (Berl.) **41**, 391—395 (1953). — Naora, H., G. Richter and H. Naora: Further studies on the synthesis of RNA in enucleate *Acetabularia mediterranea*. Exp. Cell Res. 1959 (im Druck). — Richter, G.: Enzymologische Untersuchungen an *Hydrodictyon reticulatum* (L.) Lagerh. mit besonderer Berücksichtigung periodischer Aktivitätsschwankungen. Diss. Marburg 1956. — Zur Frage der RNS-Synthese in kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Naturwiss. **44**, 520—521 (1957). — Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 259—275 (1958). — Die Auswirkungen der Zellkern-Entfernung auf die Synthese von RNS und Cytoplasma-Proteinen bei *Acetabularia*. Biochim. biophys. Acta 1959 (im Druck). — Stocking, C. R.: The intracellular localisation of phosphorylase in leaves. Amer. J. Bot. **39**, 283—287 (1952). — Vanderhaeghe, F.: Les éffets de l'énucléation sur la synthèse des protéines chez *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **15**, 281—287 (1954). — Weier, T. E., u. C. R. Stocking: The chloroplast: Structure, inheritance, and enzymology. II. Bot. Review **18**, 14—75 (1952). — Werz, G.: Zit. in J. Hämmerling, Neuere Versuche über Polarität und Differenzierung bei *Acetabularia*. Biol. Z. **74**, 545—554 (1955). — Werz, G., u. J. Hämmerling: Proteinsynthese in wachsenden und nichtwachsenden kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Planta (Berl.) **53** 1959 (im Druck). — Yin, H. C.: Phosphorylase in plastids. Nature (Lond.) **162** 928—929 (1948). — Yin, H. C., and Y. T. Tung: Phosphorylase in guard cells Science **108**, 587—588 (1948).

Dr. Heinz Clauss,
z. Zt. c/o National Research Council, Division of Applied Biology,
Plant Physiol. Section, Ottawa 2 (Canada)

Planta, Bd. 52, S. 543—553 (1959)

Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abteilung Hämmerling, Wilhelmshaven

ÜBER DIE LÖSLICHEN KOHLENHYDRATE DER GRÜNALGE *ACETABULARIA MEDITERRANEA* UND DEREN QUANTITATIVE VERÄNDERUNGEN IN KERNHALTIGEN UND KERNLOSEN TEILEN

Von

HEINZ CLAUSS und KONRAD KECK

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. September 1958)

Einleitung

Die einkernige, zur Familie der Dasycladaceen gehörige Grünalge *Acetabularia* ist auf Grund ihrer besonderen Eigenschaften ein geeignetes Objekt zum Studium der „Kernwirkung". Zahlreiche mit *Acetabularia* durchgeführte Untersuchungen haben ergeben, daß Formbildungsprozesse und verschiedene Synthesen in kernlosen Zellen zunächst weiterlaufen können (HÄMMERLING 1934, 1957; HÄMMERLING u. Mitarb. 1958). So können Zellproteine (VANDERHAEGHE 1954; BRACHET, CHANTRENNE und VANDERHAEGHE 1955; WERZ 1955; CLAUSS 1958) einschließlich gewisser Enzyme (KECK und CLAUSS 1958, CLAUSS 1959), Chloroplastenfarbstoffe (RICHTER 1958, CLAUSS 1958) und Zellwandmaterial (HÄMMERLING 1934, WERZ 1957) gebildet werden. Alle diese Synthesen kommen in kernlosen Teilen jedoch früher oder später zum Stillstand.

Möglicherweise ist einer der Gründe hierfür der allmähliche Ausfall von für diese verschiedenen Synthesen benötigten Baustoffen. Da *Acetabularia* eine photosynthetisierende Zelle ist, wird man dabei zunächst an die ersten „stabilen" Endprodukte der Photosynthese denken müssen. Wir haben deshalb die Veränderungen des Gehaltes an löslichen Kohlenhydraten untersucht.

Material und Methode

Als Versuchsmaterial dienten die am hiesigen Institut gehaltenen Kulturen von *Acetabularia mediterranea*. Bezüglich der Kulturmethoden siehe HÄMMERLING (1944) und BETH (1953). Die kernlosen Teile (s. u.) wurden wie üblich durch Zerschneiden der Zellen mittels „Weckerscheren" hergestellt. Nach einer Erholungspause von ca. $1^1/_2$ Tagen im Dunkeln wurden die Teile in Kulturschalen gebracht und bis zur Aufarbeitung an einer künstlichen Sonne in 12:12 Stunden-Dunkelwechsel bei ca. 2500 Lux (Philips-Warmton Leuchtstoffröhren TL 20 W/29) und 21—23° C kultiviert.

Zuckerbestimmung: Zur Extraktion der löslichen Kohlenhydrate wurden die Teile, in der Regel 50, am Ende der Dunkelperiode den Kulturschalen entnommen

und in 3ml Acetatpuffer (0,1 m, p_H 5,5) in Glashomogenisatoren vom Typ Potter-Elvehjem homogenisiert. Danach wurde das Homogenat zur Entfernung der Chloroplasten und Zellmembranen 20 min bei 5000 g zentrifugiert und der Überstand in nachgeeichte Meßzylinder abgegossen. Zur vollständigen Extraktion der Zucker wurde der Rückstand mit der Spülflüssigkeit der Homogenisatoren aufgewirbelt und der Überstand nach erneuter Zentrifugation mit dem vorigen vereinigt. Durch Zugabe von Puffer wurden die Extrakte auf ein von dem jeweiligen Zuckergehalt abhängendes Volumen aufgefüllt.

Die Bestimmung des Zuckers in den Extrakten erfolgte nach HASLEWOOD und STROOKMAN (1939). Die von den Autoren vorgeschlagene Enteiweißung der Proben konnte wegen des geringen Proteingehaltes der Extrakte unterbleiben, zumal Kontrollbestimmungen mit enteiweißten Proben die gleichen Werte ergaben. Im übrigen wurden die vorgeschriebenen Bedingungen strikt eingehalten.

Die reduzierenden Zucker wurden direkt im Extrakt bestimmt. Zur Ermittlung der nichtreduzierenden Zucker wurde 1 ml des Extraktes mit 1 ml 0,2 n bzw. 2,0 n H_2SO_4 versetzt und 1 Std im kochenden Wasserbad hydrolysiert. Nach dem Abkühlen der Proben wurde mit 1 ml 0,2 n bzw. 2,0 n NaOH neutralisiert und 1 ml zur Zuckerbestimmung verwendet. Die nach Zugabe des Folin-Reagens entstehende Blaufärbung wurde nach genau 15 min im Photometer „Eppendorf" bei 578 mμ gemessen. Der Zuckergehalt der Proben wurde einer unter genau den gleichen Bedingungen mit Fructose ermittelten Eichkurve entnommen.

Papierchromatographie: Zur Bestimmung der in der löslichen Fraktion vorliegenden Zucker wurden 200 Zellen (ca. 30 mm lang) im Potter-Elvehjem-Homogenisator in 0,5 ml aqua dest. zerkleinert und sofort 2,0 ml abs. Äthanol (p. a. Merck) zugegeben. Danach wurde abzentrifugiert und die Extraktion mit 80%igem Äthanol und aqua dest. wiederholt. Zur Entfernung der Chloroplastenfarbstoffe wurden die vereinigten Extrakte mit der dreifachen Menge Chloroform geschüttelt und nach dem Entmischen der chlorophyll- und carotinoidfreie Überstand im Vakuum-Exsiccator über P_2O_5 bei 20° C zur Trockene eingedampft. Nach Aufnahme des Rückstandes in aqua dest. und Auftragen eines aliquoten Teiles auf Chromatographie-Papier (Schleicher und Schüll 2043b) wurde mit Butanol: Essigsäure: H_2O (absteigend) 40:10:50 bzw. Phenol: Wasser (aufsteigend) entwickelt. Der Nachweis der Zucker erfolgte mit Anilin-Phthalsäure, Harnstoff-Salzsäure und 2,4-Dinitrophenylhydrazin (Zusammensetzung der Sprühreagentien siehe LINSKENS 1955).

Ergebnisse

1. Die Zusammensetzung der Kohlenhydratfraktion. Wird das Papierchromatogramm mit Butanol: Eisessig: Wasser (40:10:50) entwickelt, so können nach dem Besprühen mit spezifischen Ketose-Reagentien 8 Flecke unterschieden werden (Abb. 1). Der am schnellsten wandernde Zucker ist mit Fructose identisch. Die übrigen Zucker bilden eine Reihe mit bis auf 0 abnehmenden R_f-Werten, beginnend mit der Saccharose. Mit dem Anilin-Phtalsäure-Sprühreagens tritt über der Fructose ein weiterer, allerdings auch unter der UV-Lampe nur schwach angedeuteter Fleck auf, der auf Glucose hinweist.

Wir dürfen deshalb annehmen, auch auf Grund der weitgehenden Übereinstimmung mit den Verhältnissen bei fruktosanhaltigen höheren Pflanzen (z. B. Compositen: DEDONDER 1951, 1952; BACON und EDELMAN 1951; *Cycoris radiata Herb.*: NAKAHARA, HATANAKA und KAWADA

1957), daß die löslichen Kohlenhydrate von *Acetabularia* aus Fruktosanen und deren Begleitzuckern zusammengesetzt sind.

Daß *Acetabularia* Fruktosane enthält, hat schon LEITGEB (1887) nachgewiesen. Vor kurzem konnte DU MÉRAC (1956) zeigen, daß auch die löslichen Kohlenhydrate von *Cymopolia barbata (L.) Harv.*, ebenfalls einer Dasycladacee, aus einer Anzahl von fruktosehaltigen Zuckern bestehen. Offenbar ist das Vorkommen von Fruktosanen für die Gruppe der Dasycladaceen typisch.

Die im folgenden Abschnitt mitgeteilten Angaben beziehen sich demnach einerseits auf die Fructose und die in Spuren vorhandene Glucose (reduzierende Zucker) und andererseits auf die Saccharose und die übrigen zwischen dieser und dem Startpunkt liegenden Zucker (nicht reduzierende Zucker).

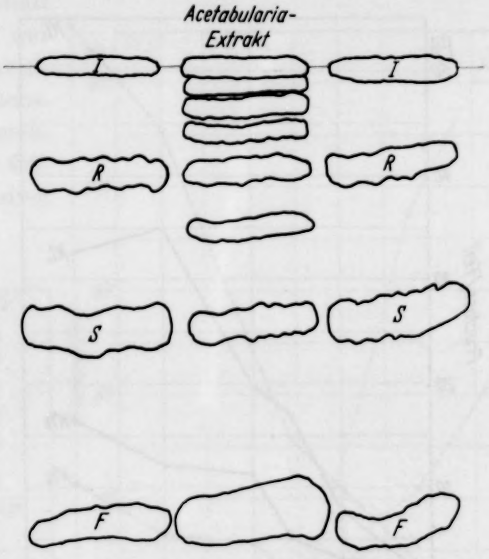


Abb. 1. Nachgezeichnete Wiedergabe des Papierchromatogramms eines alkoholischen *Acetabularia*-Extraktes (Mitte). 60 h absteigend mit Butanol : Essigsäure : H_2O (40 : 10 : 50) chromatographiert. Besprüht mit Harnstoff : HCl. Links und rechts Vergleichssubstanzen: Von oben nach unten: Inulin (*I*), Raffinose (*R*), Saccharose (*S*), Fructose (*F*). (Die in Spuren vorliegende Glucose ist mit diesem Sprühreagens nicht nachweisbar)

2. Über die quantitativen Veränderungen des Zuckergehaltes in kernhaltigen und kernlosen Teilen. a) Kernlose und kernhaltige Zellen: Junge Zellen von 15 bis 18 mm Länge wurden durch Amputation des Rhizoides kernlos gemacht und die Veränderungen ihres Kohlenhydratgehaltes über einen Zeitraum von 28 Tagen verfolgt. Als Vergleichsbasis dienten Zellen derselben Ausgangslänge mit Rhizoid (kernhaltig). Die Formbildung der Teile entsprach dem normalen Verhalten (siehe z. B. CLAUSS 1958).

In kernlosen Zellen nimmt der Gehalt an reduzierenden und nichtreduzierenden Zuckern wesentlich stärker zu als in kernhaltigen (Abb. 2). Der reduzierende Anteil erreicht in kernlosen Zellen nach ca. 21 bis 28 Tagen offenbar einen Maximal-Wert, der 2—3mal höher liegt als der kernhaltiger Zellen (ca. 35—32 μg/Teil bei kernlosen bzw. 12,5—16 μg bei kernhaltigen Zellen). Noch größer sind die Unterschiede bei den nichtreduzierenden Zuckern. Sie vermehren sich in kernlosen Zellen von 1 auf 55 μg, in kernhaltigen dagegen nur von 1 auf 10 μg.

Die Bildung der nichtreduzierenden Zucker wird in kernlosen Zellen also stärker gefördert als die Synthese von reduzierenden Zuckern. Dieselben Gesetzmäßigkeiten gelten auch für die anschließend zu besprechenden Teilstücke.

b) Teilstücke: Da bereits zahlreiche vergleichende Untersuchungen über die Leistungen von Zellabschnitten aus der Apikal- und Basalregion vorliegen (HÄMMERLING 1934, 1957; RICHTER 1958; CLAUSS 1958), haben wir auch diese Teile in die Untersuchungen einbezogen. Zellen von ca. 30 mm Stiellänge im Stadium „kurz vor der Hutbildung" wurden in kernlose Vorderstücke, kernlose Hinterstücke und kernhaltige Hinterstücke mit Rhizoid von 12 mm Länge geschnitten und die Veränderungen ihres Zuckergehaltes über 28 Tage verfolgt. Die in diesem Zeitraum geleistete Formbildung entsprach dem gewohnten Verhalten; Vorderstücke hatten während des Versuches Stiel und häufig einen Hut gebildet, Hinterstücke Abschlußkappen an den Schnittflächen und vereinzelt Kümmerwirtel, die kernhaltigen Teile dagegen ca. 20 mm Stiel und durchweg Hüte von ca. 4—5 mm Durchmesser (siehe z. B. CLAUSS 1958).

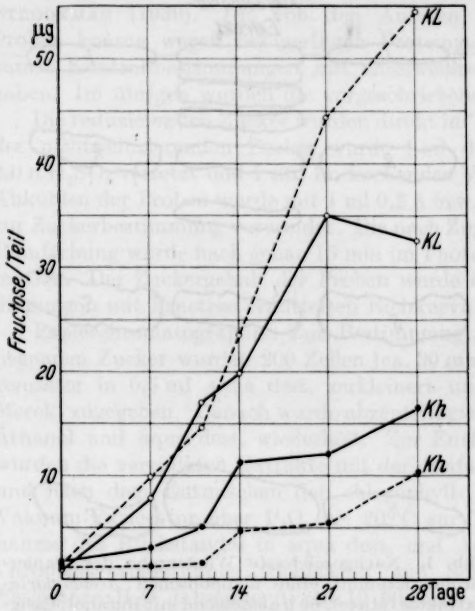


Abb. 2. Veränderungen des Gehaltes an reduzierenden und nichtreduzierenden Zuckern in kernhaltigen und kernlosen Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge. —— reduzierende Zucker, ---- nichtreduzierende Zucker, ● kernhaltige (*Kh*), ○ kernlose (*Kl*) Zellen. Ordinate: µg Fructose pro Teilstück. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn

In Vorderstücken setzt unmittelbar nach dem Zerschneiden der Zelle eine sehr starke Vermehrung der reduzierenden Zucker ein. Der Zuckergehalt erreicht nach 7 (Abb. 3a) bzw. zwischen 8—19 Tagen (Abb. 3b) ein Maximum und fällt dann bis zum 28. Tage ab. Die Zunahme in kernlosen Hinterstücken und kernhaltigen Hinterstücken ist gleich und beträgt nur einen Bruchteil von dem der Vorderstücke. Der Zuckergehalt erhöht sich stetig bis zum 28. Tage. Überraschend und zur Zeit noch unverständlich ist das gleichartige Verhalten dieser Teile, wenn man sich vergegenwärtigt, daß die Hinterstücke mit Rhizoid in

der Versuchszeit zur voll entwickelten Zelle (ca. 30 mm Stiellänge und Hut von ca. 5 mm ∅) heranwachsen, während sich die Hinterstücke durch die Bildung von Abschlußkappen lediglich um höchstens 1—2 mm verlängert haben.

Das Verhalten der nichtreduzierenden Zucker läßt dagegen deutlich Unterschiede zwischen den kernhaltigen und den kernlosen Teilen erkennen. Während der Gehalt in Hinterstücken mit Rhizoid nur langsam ansteigt, zeigen die kernlosen Teile eine bis zum Versuchsende anhaltende enorme Vermehrung, die in den Vorderstücken früher einsetzt und zudem intensiver ist als in Hinterstücken.

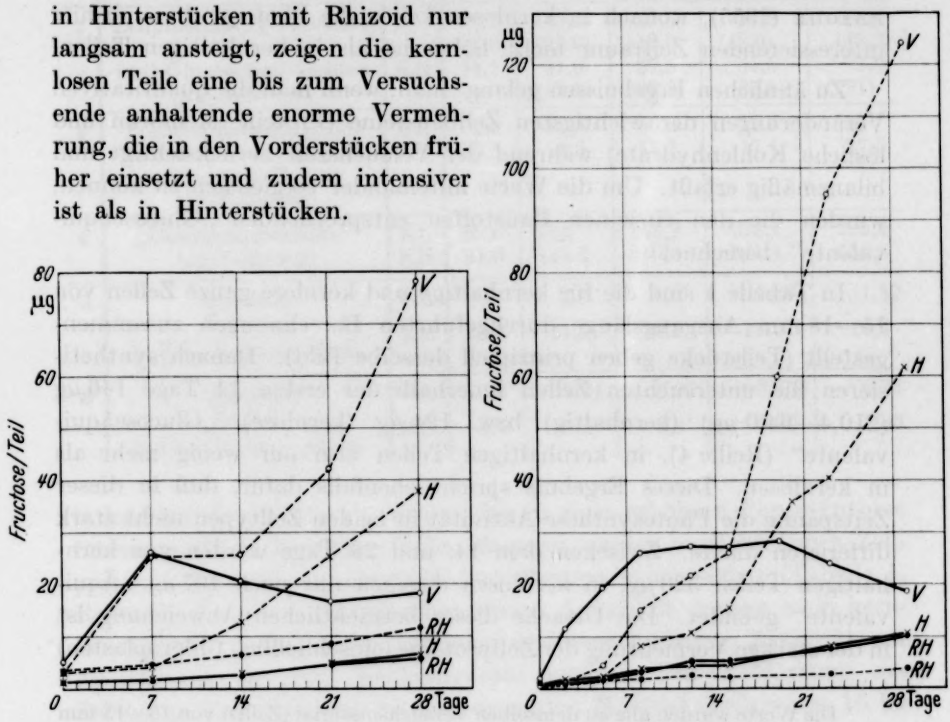


Abb. 3a u. b. Veränderungen des Gehaltes an reduzierenden und nichtreduzierenden Zuckern in „Vorderstücken", „Hinterstücken" und „Hinterstücken mit Rhizoid". Wiedergabe zweier Wiederholungen. —— reduzierende Zucker, ---- nichtreduzierende Zucker, o Vorderstücke (*V*), × Hinterstücke (*H*), ● Hinterstücke mit Rhizoid (*RH*). In Abb. 3a wurden die nichtreduzierenden Zucker mit 1,0 n H_2SO_4, in Abb. 3b mit 0,1 n H_2SO_4 hydrolysiert. Ordinate: µg Fructose pro Teilstück. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn

Wird der Zellextrakt an Stelle von 0,1 n H_2SO_4 mit 1,0 n H_2SO_4 hydrolysiert, so treten zusätzliche Zucker auf. Dieser Anteil (1,0 n — 0,1 n H_2SO_4) vermehrt sich in Hinterstücken mit Rhizoid stetig, verschwindet dagegen nach anfänglicher Zunahme in kernlosen Teilstücken nach ca. 14 Tagen. Um welche Zucker es sich dabei handelt, ist zur Zeit noch unbekannt. Vielleicht stammen sie aus pufferlöslichen Begleitstoffen der Zellwand. Sollten sich diese Vermutungen bestätigen, so wäre dies ein erster Hinweis auf einen in kernlosen Teilen veränderten Aufbau der Zellwand.

Besprechung der Ergebnisse

Als Folge der Entfernung des Zellkernes kommt es bei unserem Objekt früher oder später zu einer erheblichen Speicherung von Fructose und Fructosanen in Vorderstücken und ganzen kernlosen Zellen oder nur Fructosanen in Hinterstücken. Die Ursache hierfür könnte auf einer erhöhten photosynthetischen Aktivität dieser Teile beruhen. Dagegen sprechen jedoch die Befunde von BRACHET, CHANTRENNE und VANDERHAEGHE (1955), wonach in kernlosen Teilen die Photosynthese im hier interessierenden Zeitraum nicht höher ist als in kernhaltigen Teilen.

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangt man, wenn man die quantitativen Veränderungen der wichtigsten Zellbausteine (Protein, Membran und lösliche Kohlenhydrate) während der Versuchszeit berücksichtigt und bilanzmäßig erfaßt. Um die Werte miteinander vergleichen zu können, wurden die den einzelnen Baustoffen entsprechenden „Glucoseäquivalente" berechnet[1].

In Tabelle 1 sind die für kernhaltige und kernlose ganze Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge durchgeführten Berechnungen zusammengestellt (Teilstücke geben prinzipiell dasselbe Bild). Danach synthetisieren die untersuchten Zellen innerhalb der ersten 14 Tage 146 μg (210,4—64,0 μg) (kernhaltig) bzw. 124 μg (kernlose) „Glucoseäquivalente" (Reihe 4), in kernhaltigen Teilen also nur wenig mehr als in kernlosen. Dieses Ergebnis spricht ebenfalls dafür, daß in dieser Zeitspanne die Photosynthese-Aktivität in beiden Zelltypen nicht stark differieren dürfte. Zwischen dem 14. und 28. Tage werden von kernhaltigen Teilen 320 μg, in kernlosen dagegen nur noch 107 μg „Äquivalente" gebildet. Die Ursache dieser beträchtlichen Abweichung ist in der starken Vermehrung der Zellproteine (einschließlich Chloroplasten)

[1] Die Werte wurden alle an demselben Versuchsmaterial (Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge) gewonnen. Zur Ermittlung des Trockengewichtes wurden die Zellen, wie bei CLAUSS (1958) beschrieben, zur Bestimmung des nichttrichloressigsäurelöslichen Proteinstickstoffes extrahiert. Nach dem Wägen wurde der Proteinstickstoff nach KJELDAHL bestimmt. Zur Berechnung der „Glucose-Äquivalente" wurden folgende, vereinfachende Annahmen gemacht: a) Die Zellmembran (ermittelt als Differenz von Trockengewicht und Proteingehalt) wurde als reines Kohlenhydrat angenommen und ohne weitere Korrektur in die Tabelle eingesetzt. [Nach vorläufigen Untersuchungen ist die Zellmembran vorwiegend aus Mannose-Resten aufgebaut (CLAUSS unveröffentlicht).] b) Die Werte für lösliche Kohlenhydrate wurden Abb. 2 entnommen (Summe aus reduzierenden und nichtreduzierenden Zuckern). c) Die dem Protein entsprechende Glucosemenge wurde unter Zugrundelegung je eines C 4-Körpers pro Proteinstickstoff berechnet, so daß von je 2 Hexosen maximal 3 Proteinbausteine gebildet werden können. Die errechneten Daten sind nur grobe Näherungswerte, auch deshalb, weil der veratmete Anteil nicht berücksichtigt werden konnte. Dennoch dürften sie ein in der Größenordnung richtiges Bild der Synthese-Leistung liefern.

Tabelle 1. *Quantitative Veränderungen des Zellwandmaterials, der Zellproteine und der löslichen Kohlenhydrate innerhalb 28 Tagen bei kernhaltigen (KH) und kernlosen (KL) Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge*

			Tage				
			0	7	14	21	28
1	Zellwandmaterial (µg/Teilstück)	KL	35,3	52,8	83,7	146,3	158,1
		KH	36,4	89,4	133,5	236,5	382
2	Zellproteine (µg/Teilstück)	KL	12,7	19,2	23,5	28,2	28,4
			(21,6)	(32,6)	(43,0)	(48,0)	(48,3)
	in () Glucoseäquivalenten (µg/Teilstück)	KH	14,1	31,6	37,5	51,5	71,0
			(24)	(53,8)	(63,8)	(87,5)	(121)
3	Lösliche Kohlenhydrate Reduzierende und nichtreduzierende Zucker (µg/Teilstück)	KL	2,2	18,5	56,5	79,4	87
		KH	3,5	4,2	13,1	17,4	27,5
4	„Glucoseäquivalente" (µg/Teilstück)	KL	59,0	104	183,2	273,7	293,4
		KH	64,0	147,4	210,4	341,4	530,5
5	Quotient: Zellwand / lösliche Kohlenhydrate	KL	16	2,9	1,5	1,83	1,82
		KH	10,3	21,0	10,2	13,5	14,4
6	Quotient: Protein / lösliche Kohlenhydrate	KL	5,8	1,04	0,42	0,355	0,33
		KH	4,0	7,5	2,9	2,96	2,60

in kernhaltigen Zellen zu suchen, die zu einer erhöhten Photosynthese führen muß. In kernlosen Teilen dagegen werden nach 14 Tagen Zellproteine nur noch in unerheblichen Mengen synthetisiert (Tabelle 1, Reihe 2). Tabelle 1 gibt darüber hinaus Aufschluß, warum es in kernlosen Zellen bei m. o. w. normaler photosynthetischer Aktivität zur Speicherung löslicher Kohlenhydrate kommt. Die Entfernung des Zellkernes führt bei dem hier untersuchten Material (Zellen von 15 bis 18 mm Länge) sofort zu einer Abschwächung des Zellwachstums gegenüber der kernhaltigen Zelle und schließlich nach ca. 2 Wochen zu dessen Beendigung (siehe z. B. Clauss 1958). Parallel damit geht eine Herabsetzung der Membranbildung (Tabelle 1, Reihe 1), der Proteinsynthese (siehe z. B. Clauss 1958 und Tabelle 1, Reihe 2) und der anderen untersuchten, hier aber nicht berücksichtigten Synthesen (Chlorophyll a und b: Richter 1958; Clauss 1958, Carotinoide: Richter 1958). Die anfallenden Photosyntheseprodukte werden deshalb nur noch zu einem geringeren Prozentsatz in die Membran und die Proteine eingebaut. Dadurch steht ein erhöhter Anteil der Kohlenhydrate zur Synthese von Fructosanen zur Verfügung (Tabelle 1, Reihe 3). Andererseits entzieht der in kernhaltigen Zellen ungehindert ablaufende Um- und Einbau der anfallenden Kohlenhydrate in die Membran und die Proteine offenbar dem die

Fructosane synthetisierenden Enzymsystem weitgehend das benötigte Substrat, so daß es in kernhaltigen wachsenden Zellen nie zu einer erheblichen Speicherung von Fructosanen kommt.

Die „Umleitung" der Kohlenhydrate kommt auch in den Veränderungen der Quotienten Zellmembran/löslichen Kohlenhydraten und Protein/löslichen Kohlenhydraten zum Ausdruck, die als Maß für den Einbau der Photosyntheseprodukte in Membran und Eiweiß gewertet werden können. Sie sind in normal wachsenden, kernhaltigen Zellen relativ hoch und fallen in kernlosen Teilen sehr stark ab (Tabelle 1, Reihe 5 und 6).

Es könnte der Eindruck entstehen, die Fructosane kernloser Zellen könnten nicht mehr umgebaut und für andere Synthesen verwendet werden. Dieser Einwand ist jedoch zumindest für dissimilatorische Prozesse zu entkräften. In verdunkelten kernlosen Teilen werden sowohl die reduzierenden als auch die nichtreduzierenden Zucker mit der gleichen Intensität abgebaut wie in kernhaltigen, wie aus speziellen Versuchen hervorgeht, die keiner näheren Darstellung bedürfen.

Die zunehmende Abschwächung der verschiedenen Synthesen in kernlosen Teilen, die schließlich zu deren Stillstand führt, kann demnach nicht auf Mangel an verwertbaren Photosyntheseprodukten beruhen, was übrigens auch für die Synthese von Polyphosphaten gilt (Stich 1955, 1956). Vielmehr muß damit gerechnet werden, daß bestimmte, wohl eng mit dem Zell- und Plasmawachstum gekoppelte Stoffwechselprozesse und Emzymsysteme in kernlosen Zellen sehr früh in Mitleidenschaft gezogen werden. Anhaltspunkte hierüber liegen bis jetzt in geringer Anzahl vor. So konnten Richter (1957, 1959b) sowie Naora u. Richter (1959) nachweisen, daß sich der Gehalt der für die Proteinsynthese bedeutungsvollen Ribonucleinsäure in kernlosen Zellen innerhalb 28 Tagen nicht verändert. [Die Angaben von Bracht u. Mitarb. (1955) über eine Zunahme des RNS-Gehaltes in kernlosen Teilen haben sich damit als nicht zutreffend herausgestellt, s. auch Hämmerling u. Mitarb. 1958, Richter 1959a.] Welche Folgen diese Ausfallserscheinungen — auch die frühzeitige Abnahme der Aktivität der sauren Phosphatase wäre hier zu erwähnen (Keck u. Clauss 1958) — für den Kohlenhydrat-Stoffwechsel der *Acetabularia*-Zelle haben, ist abgesehen davon, daß es zu der oben beschriebenen „Umorientierung" kommt, noch vollkommen unklar, vor allem auch deshalb, weil wir über den Kohlenhydratstoffwechsel von *Acetabularia* zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur mangelhaft informiert sind.

Ähnliches konnte schon Klebs (1887), vor bereits 71 Jahren, an *Zygnema* und *Spirogyra* beobachten, die durch Plasmolyse in 16% Rohrzuckerlösung kernlos gemacht und in diesem Medium weiter kultiviert wurden. „Es trat sogar eine bemerkenswerte Korrelationserscheinung

auf, insofern die kernlosen Teilstücke sehr viel reichlicher Stärke bildeten als die von der gleichen Zelle abstammenden kernhaltigen Teile. Bei den Zygnemen bestand schließlich die kernlose Zellhälfte fast größtenteils aus Stärkekörnern, welche oft viel größer waren, als sie in den gewöhnlichen vegetativen Zuständen zu beobachten sind." Auch in diesem Falle darf man auf Grund der Untersuchungen VAN WISSELINGS (1909) wohl annehmen, daß die Stärkespeicherung ebenfalls durch eine Abschwächung und einen allmählichen Ausfall der Bildung von Zellwandmaterial und der Proteinsynthese bei zunächst wenig betroffener Photosynthese verursacht wird.

Die Untersuchungen der Teilstücke zeigen neben diesen allgemeinen, zwischen kernhaltigen und kernlosen Teilen bestehenden Gesetzmäßigkeiten, daß isolierte Vorderstücke innerhalb 28 Tagen ca. doppelt soviel lösliche Kohlenhydrate synthetisieren als nichtwachsende Hinterstücke (Abb. 3a und b). Dieses Verhalten ist kein Sonderfall. Auch die Synthese der Zellproteine (HÄMMERLING u. Mitarb. 1958, CLAUSS 1958, WERZ u. HÄMMERLING 1959), der Chloroplastenfarbstoffe (RICHTER 1958, CLAUSS 1958) und des Zellwandmaterials ist in Vorderstücken z. T. beträchtlich höher (s. auch Tabelle 2). Die Befunde zeigen, daß die Stoffwechselaktivität in der „jüngeren" Spitzenregion — die übrigens auch die Wachstumszone einschließt — generell höher ist als in der „älteren" Basalregion.

Tabelle 2. *Zunahme des Zellwandmaterials und der Zellproteine in wachsenden Vorderstücken (V) und nichtwachsenden Hinterstücken (H)*

Sämtliche Angaben in μg pro Teilstück.

Tag		0	7	14	21	28
Zellmembran	V	20	53,0	96,4	120,6	144 (+600%)[1]
	H	62,7	107	128	130	131,2 (+100%)[1]
Zellproteine (Chloroplasten und Cytoplasma)	V	9,6	14,3	16,6	18,4	22,0
	H	7,32	10,3	11,95	11,9	11,8

[1] WERZ (1957) fand eine geringere Zunahme des Zellmembran-Trockengewichtes, außerdem keinen Unterschied zwischen Vorder- und Hinterstücken. Dies dürfte einerseits auf der anderen Extraktionsmethode beruhen, andererseits enthielt das von WERZ untersuchte Material, im Gegensatz zu dem unserigen, keine Vorderstücke, die Hüte gebildet hatten.

Worauf diese Unterschiede beruhen, ist z. Z. noch unbekannt. Möglicherweise spielen „Alterungsprozesse" eine gewisse Rolle. Vor einer Erörterung dieser sehr komplexen Vorgänge — auch die Aufhebung von apikal-basalen Korrelationen ist beteiligt — müssen jedoch noch weitere Untersuchungen abgewartet werden.

Summary

1. The uninucleate green alga *Acetabularia mediterranea* contains the following soluble carbohydrates: fructose, sucrose very small amounts of glucose and other sugars chiefly consisting of fructose polymers on paper chromatograms the latter behave like fructosans of higher plants.

2. In enucleated entire cells and cell parts the contents of reducing and non-reducing carbohydrates rise much more than in comparable nucleated cells.

3. This increase in content of soluble carbohydrates is probably due to the fact that in enucleated parts synthetic processes consuming carbohydrates (for example the synthesis of cell wall material and proteins) are weakened and later stopped. Therefore more substrate is available for the synthesis of fructose and fructosans.

4. The stop of cell growth, of protein synthesis and of all other synthetic processes studied to date in enucleated parts cannot be explained by the absence of products of photosynthesis, but must have other reasons.

5. Enucleated cell parts of the apical region are more active in carbohydrate metabolism than equally long parts of the basal region.

Fräulein v. ROYK danken wir für die Betreuung des Versuchsmaterials, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Gewährung von Sachbeihilfen.

Literatur

BACON, S. D., and J. EDELMAN: The carbohydrates of the Jerusalem Artichoke and other Compositae. Biochem. J. **48**, 114—126 (1951). — BETH, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. **8b**, 334—342 (1953). — BRACHT, J.: Biochemical cytology. New York: Academic Press Inc., Publ. 1957. — BRACHET, J., H. CHANTRENNE et F. VANDERHAEGHE: Recherches sur les interactions biochemiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — CLAUSS, H.: Über quantitative Veränderungen der Chloroplasten — und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 334—350 (1958). — Das Verhalten der Phosphorylase in kernhaltigen und kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 534—542 (1959). — DEDONDER, R.: Les glucosides du topinambur. IV. Isolement, analyse et structure des premiers termes de la série des polyosides. C. R. Acad. Sci. (Paris) **232**, 1134—1136 (1951). — Les glucosides du topinambur. II. Contribution à l'étude des glucosides du topinambur par la méthode des hydrolyses ménagées. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **34**, 157—170 (1952). — HÄMMERLING, J.: Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Nucleus and

cytoplasm in *Acetabularia*. VIII. Congr. Intern. de Botanique, Paris 1954; C. R. Séances et Rapp. et Communic. déposés lors du Congrès dans la Section **10**, 87—103 (1957). — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6**, 210—226 (1958). — HASLEWOOD, G. A. D., u. H. F. STROOKMAN: Zit. in K. HINSBERG u. K. LANG, Medizinische Chemie für den klinischen und theoretischen Gebrauch. München u. Berlin 1951. — KECK, K., u. H. CLAUSS: Nuclear control of enzyme synthesis in *Acetabularia*. Bot. Gaz. **120**, 43—49 (1958). — KLEBS, G.: Über den Einfluß des Kernes in der Zelle. Biol. Zbl. **7**, 161—168 (1887). — LEITGEB, H.: Die Inkrustation der Membran von *Acetabularia*. S.-B. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. **96**, Abt. 1 (1887). — LINSKENS, H. F. (Herausgeb.): Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955. — DU MERAC, M. L.: Une Néoméridacée fructosanifère: *Cymopolia barbata* L. Harv. C. R. Acad. Sci. (Paris) **243**, 714—717 (1956). — NAKAHARA, K., C. HATANAKA and Y. KAWADA: On the sugars contained in *Lycoris radiata Herb.* and their enzymatic synthesis. Biol. J. Okayama Univ. **3**, 187—195 (1957). — NAORA, H., G. RICHTER and H. NAORA: Further studies on the synthesis of RNA in enucleate *Acetabularia mediterranea*. Exp. Cell Res. 1959 (im Druck). — RICHTER, G.: Zur Frage der RNS-Synthese in kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Naturwiss. **44**, 520—521 (1957). — Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 259—275 (1958). — Die Auswirkungen der Zellkernentfernung auf die Synthese von RNS und Cytoplasma-Proteinen bei *Acetabularia*. Biochim. biophys. Acta 1959 (im Druck). — Die Auslösung kerninduzierter Regeneration bei gealterten kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Planta (Berl.) **52**, 554—564 (1959). — STICH, H.: Synthese und Abbau der Polyphosphate von *Acetabularia* nach autoradiographischen Untersuchungen des ^{32}P-Stoffwechsels. Z. Naturforsch. **10b**, 281—284 (1955). — Änderungen von Kern und Polyphosphaten in Abhängigkeit von dem Energiegehalt des Cytoplasmas bei *Acetabularia*. Chromosoma (Berl.) **7**, 693—707 (1956). — VANDERHAEGHE, F.: Les effects de l'énucléation sur la synthèse des protéines chez *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **15**, 281—287 (1954). — WERZ, G.: Zit. in J. HÄMMERLING, Neuere Versuche über die Polarität und Differenzierung bei *Acetabularia*. Biol. Zbl. **74**, 545—554 (1955). — Membranbildung bei kernlosen, wachsenden Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Z. Naturforsch. **12b**, 739—740 (1957). — WERZ, G., u. J. HÄMMERLING: Proteinsynthese in kernlosen wachsenden und nichtwachsenden Zellteilen von *Acetabularia*. Planta (Berl.) **53** (1959) (im Druck). — WISSELINGH, C. VAN: Zur Physiologie der *Spirogyrazelle*. Beih. bot. Zbl., 1. Abt. **24**, 133—210 (1909).

Dr. HEINZ CLAUSS,
z. Z. c/o National Research Council, Division of Applied Biology,
Plant Physiol. Section, Ottawa 2 (Canada)

Dr. KONRAD KECK,
Chemistry Department, Indiana University
Bloomington, Indiana (USA)

Planta, Bd. 52, S. 554—564 (1959)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven
(Abt. HÄMMERLING)

DIE AUSLÖSUNG KERNINDUZIERTER REGENERATION BEI GEALTERTEN KERNLOSEN ZELLTEILEN VON *ACETABULARIA* UND IHRE AUSWIRKUNGEN AUF DIE SYNTHESE VON RIBONUCLEINSÄURE UND CYTOPLASMAPROTEINEN*

Von

GERHARD RICHTER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. September 1958)

Einleitung

Schon 1934 hat HÄMMERLING einige Befunde mitgeteilt, wonach kernlose Teilstücke von *Acetabularia mediterranea*, welche nach ihrer Herstellung bis zu 72 Tagen in Kultur verblieben waren, bei Aufpfropfung auf ein kernhaltiges Rhizoid („Alterstransplantation") nach einiger Zeit am freien Ende unter Bildung von Stiel und Wirteln zu regenerieren begannen. Kernlose Teilstücke von *Acetabularia* — aus der basalen Stielregion durch Abtrennung des Rhizoids und der Vorderregion hervorgegangen (= „Hinterstück") — zeigen bei normaler Kultur keine nennenswerte Stielverlängerung und bilden auch im Gegensatz zu „Vorderstücken" (isolierte Spitzen) kaum Hüte. Trotzdem laufen in ihnen noch Nettosynthesen in zum Teil erheblichem Umfange ab; so erfahren die Proteine, die Plastidenpigmente (RICHTER 1958a), die Polyphosphate und einige Enzyme eine deutliche Vermehrung (Zusammenfassung diesbezüglicher Befunde bei HÄMMERLING et. al. 1958). Nach etwa 20 Tagen sind diese jedoch abgeklungen. Die Teilstücke können in dem erreichten Zustande noch über Monate existieren; hierbei läßt sich eine Verdickung ihrer Membran beobachten (WERZ 1957); das Cytoplasma wird zähflüssig. Aus der entsprechend dichten Packung der Plastiden resultiert die dunkelgrüne Farbe dieser „gealterten" kernlosen Teilstücke.

Kernhaltige Rhizoide, wie sie für die Pfropfungen verwendet wurden, zeigen hingegen bei normaler Kultur vollständige Regeneration, das heißt, nach Auswachsen eines Stiels werden schließlich Wirtel und ein Hut angelegt und ausdifferenziert.

* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft wird für die gewährten Unterstützungen gedankt.

Im Hinblick auf neuere Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Proteinen und RNS in kernlosen Zellen und Zellteilen von *Acetabularia* (RICHTER 1957, 1959) schien es von Interesse, diese Prozesse auch in gealterten Teilstücken nach Aufpfropfung bzw. Injektion (= „Implantation") eines aktiven Zellkerns und in den entstehenden Regenerat-Auswüchsen zu analysieren.

Methodischer Teil

Versuchsmaterial. Die Untersuchungen wurden an *Acetabularia mediterranea* ausgeführt, die im hiesigen Institut nach den Angaben von HÄMMERLING (1944) und BETH (1953) kultiviert wird (in „Erd-Schreiber-Lösung" bei 12 Std Tagesbeleuchtung von ~2500 Lux und ~22° C Raumtemperatur).

Kernlose Zellteile. Aus erwachsenen *med*-Pflanzen (ohne Hut, 28—35 mm Länge) wurden durch Abtrennen der Vorderregion und des Rhizoids 12 mm lange, kernlose „Hinterstücke" hergestellt; sie wurden einige Stunden im Dunkeln belassen, danach in der oben beschriebenen Weise mindestens 21 Tage kultiviert. Sie zeigten nach dieser Zeit erwartungsgemäß kein Wachstum mehr, welches auch vorher, sofern es überhaupt erfolgte, minimal gewesen war.

„Transplantate" [1] (vgl. dazu HÄMMERLING 1932, 1934). Nach Entfernung der zum Teil beiderseitig gebildeten geringen Stielregenerate bzw. einfachen Verschlußkappen wurden die gealterten Hinterstücke auf Rhizoide durch einfaches Einstecken in deren Stielansätze gepfropft. Die Rhizoide stammten von optimal gewachsenen *mediterranea*-Pflanzen (ohne Hüte, 28—35 mm Länge), von denen sie durch einfaches Abschneiden — 1-2 mm über der Stielbasis — gewonnen wurden.

Für die Herstellung der Hinterstücke und der Rhizoide wurden in der Regel nur Pflanzen gleicher Herkunft und Anzucht verwendet; bei zwei Versuchsserien entstammten sie zu verschiedenen Zeiten hellgestellten Anzuchten. Ein Unterschied in den Versuchsergebnissen war dabei nicht zu beobachten.

Die hergestellten Transplantate wurden zunächst etwa 24 Std in schwachem Dauerlicht belassen; in dieser Zeit verwuchsen die zusammengefügten Teilstücke, so daß sie ohne Schädigungen in neue Nährlösung übertragen werden konnten. In einigen Fällen unterblieb eine vollständige Verwachsung, indem das Rhizoid seitlich aus der Pfropfstelle heraus eine Spitze zu regenerieren begann. Solche Fälle wurden nicht in die Untersuchungen einbezogen. Bei der Mehrheit der Transplantate begann dagegen nach etwa 5 Tagen eine deutliche Regeneration am freien Ende des aufgepfropften Hinterstückes, wobei im Versuchszeitraum neben viel Stiel schließlich Wirtel und typische Hüte gebildet wurden. Die genauen Daten sind bei den einzelnen Versuchen aufgeführt.

„Implantate". Unter dieser Bezeichnung sind alle Kombinationen zu verstehen, bei denen ein isolierter Kern in ein kernloses Teilstück injiziert wird (vgl. HÄMMERLING 1955); die Technik sei hier kurz geschildert. Zunächst wird das kernhaltige Rhizoid abgetrennt. Nach vorsichtigem Ausdrücken seines cytoplasmatischen Inhalts in einen Tropfen eiskalter 0,25 m Saccharoselösung läßt sich der große Kern in den meisten Fällen leicht erkennen und durch Aufsaugen in eine feine Glaspipette weitgehend von dem umgebenden Cytoplasma nebst Plastiden trennen. Alle Manipulationen werden auf einem eisgekühlten Objektträger unter einer

[1] Für wertvolle Hilfe bei der Herstellung der Transplantate und Implantate sei Frl. G. SCHILLEMEIT, Frl. U. DILLE und Frl. I. BARTH sowie Herrn H. KRETSCHMER herzlich gedankt.

Binokular-Lupe vorgenommen. Als Kern-Spender dienten in diesem Falle die Rhizoide von hutlosen, 28—35 mm großen med.-Pflanzen der gleichen Anzucht.

Die injizierten Teile zeigten zunächst eine starke Auflockerung ihres Protoplasten; diese verschwand jedoch bei 35% der Fälle, wenn die Implantate zunächst 24 Std im schwachen Dauerlicht belassen wurden. Alle Teile, die danach wieder homogen grün geworden waren, wurden normal kultiviert. Nach etwa 10 Tagen begannen etwa 50% dieser mit einem Kern versehenen alten Hinterstücke an einem Ende eine neue vegetative Spitze zu regenerieren. Nach Bildung von 11 bis 16 mm Stiel erfolgte normale Wirtel- und Hutbildung.

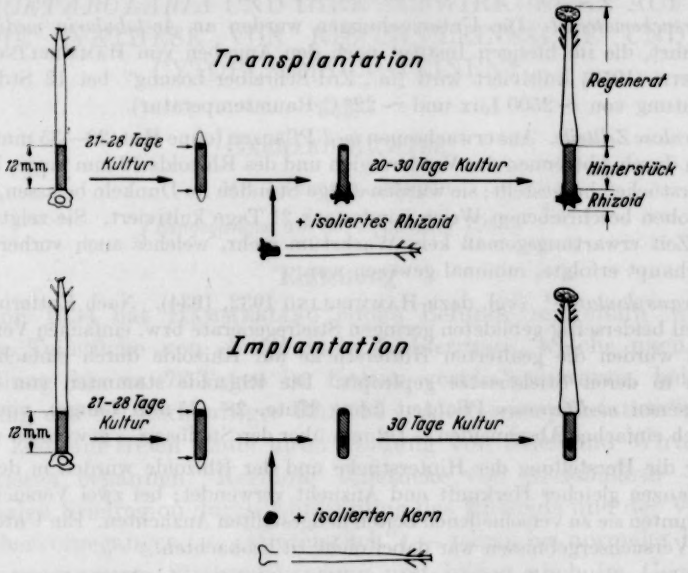


Abb. 1a. Schematische Darstellung der Technik, die bei der Herstellung der Transplantate und Implantate angewendet wurde. Nähere Einzelheiten im Text

Bei einigen anderen Implantaten setzte die Regeneration an beiden Enden des verwendeten Hinterstückes ein; in den meisten Fällen wurde jedoch bald an dem einen Ende ein Rhizoid gebildet (vgl. HÄMMERLING 1955). Für die hier beschriebenen Versuche wurden nur Implantate mit einseitigem und hutbildendem Regeneratzuwachs ausgewertet.

Zur Orientierung ist in einer beigefügten Skizze (Abb. 1) die Herstellung der Transplantate und Implantate schematisch dargestellt worden.

Präparation. Die Transplantate bzw. Implantate wurden nach Spülen in Seewasser und dest. Wasser kurzfristig in 96% Alkohol eingelegt, danach mit einer Weckerschere in Regenerat, ursprüngliches Hinterstück und Rhizoid zerlegt (vgl. Abb. 1). Diese Regionen waren auf Grund ihrer morphologischen Verschiedenheit leicht unterscheidbar.

Eine ausreichende Anzahl von Teilstücken jeder Kategorie wurde zu einer Probe vereinigt und in dieser der Gehalt an RNS bzw. Protein bestimmt.

Als Bezugsgröße diente die Anzahl der verarbeiteten Teilstücke. Jede Versuchsreihe wurde mehrfach wiederholt; als Ausgangsmaterial für die gealterten Hinterstücke und auch für die Rhizoide dienten dabei Pflanzen aus verschiedenen Anzuchten. Da die erhaltenen Befunde gut übereinstimmten, wurde nur

eine solche Versuchsreihe dargestellt, welche das typische Ergebnis aller dieser Versuche wiedergibt.

RNS- und Proteinbestimmung. Die Extraktion der Ribonucleinsäure erfolgte nach der von OGUR u. ROSEN (1950) beschriebenen Methode, die nur in wenigen Punkten modifiziert wurde; über ihre Eignung für unser Versuchsobjekt und weitere Einzelheiten wird an anderer Stelle berichtet werden (RICHTER 1959).

Parallel zur RNS wurde in anderen Proben isolierter Teilstücke der Gehalt an löslichen Proteinen bestimmt. Die Zerlegung der Trans- und Implantate erfolgte hier in Seewasser; ein geringer Substanzverlust infolge Ausfließens war dabei unvermeidlich. Nur bei den ursprünglichen Hinterstücken, deren cytoplasmatischer Inhalt seine zähe Konsistenz behalten hatte, trat kein Verlust ein.

Die Menge an „löslichen Proteinen" — darunter sind alle pufferlöslichen Proteine des Cytoplasmas ohne die Plastiden zu verstehen (vgl. RICHTER 1959) — wurde nach der colorimetrischen Methode von LOWRY u. Mitarb. (1951) gemessen, die dahingehend modifiziert wurde, daß Beimengungen von Chlorophyll nicht störten (RICHTER 1956).

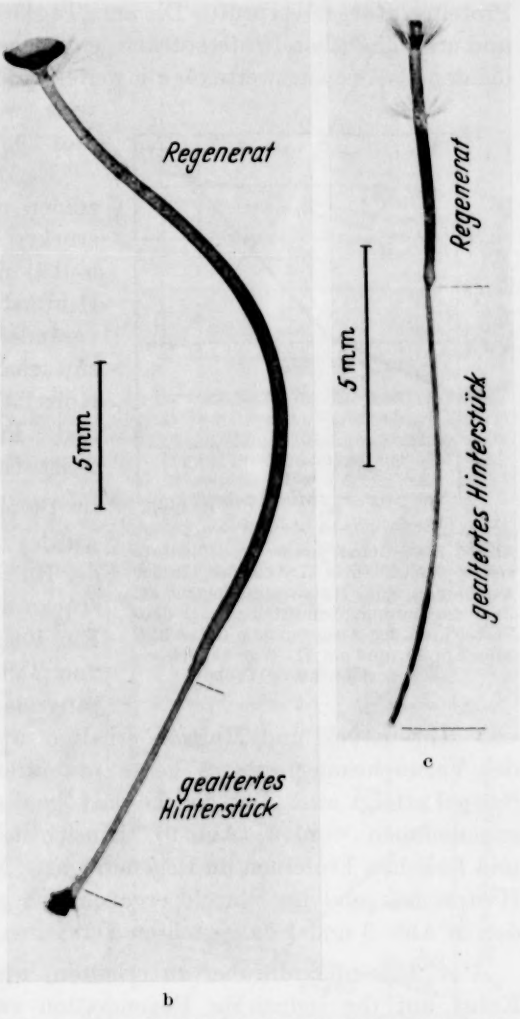


Abb. 1 b u. c. b 14 Tage altes Transplantat; das Regenerat hat bereits einen kleinen Hut ausgebildet. c 21 Tage altes Implantat: ursprüngliches gealtertes Hinterstück und Regenerat sind gut unterscheidbar

Ergebnisse

Im ersten Versuch wurde der RNS-Gehalt der Transplantate vom Zeitpunkt ihrer Herstellung bis zur Ausbildung großer Hüte am Regenerat verfolgt; die Bestimmungen erfolgten unmittelbar nach dem Verwachsen der Ausgangsteile („Tag 0") sowie am 10. und am 21. Tag danach. Abb. 2 zeigt, daß bei diesen Transplantaten, die in 20 Tagen

12 mm Stiel und zu 80% Hüte gebildet hatten, eine stetige Vermehrung der RNS um das Dreifache erfolgt war.

In den nächsten Versuchen wurde die Leistung der einzelnen Teile, aus denen sich die Transplantate zusammensetzen, hinsichtlich RNS- und Proteinsynthese überprüft. Die am „Tage 0" in den isolierten Rhizoiden und ursprünglichen Hinterstücken gemessenen Mengen dieser Substanzen dienten als Ausgangswerte für alle weiteren Bestimmungen einer Versuchsserie, welche hier am 10. bzw. 12. und 20. bzw. 23. Tag erfolgten.

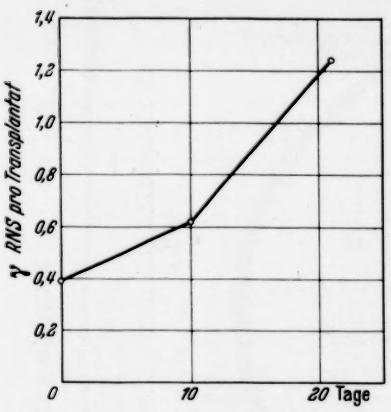


Abb. 2. RNS-Gehalt ganzer Transplantate vom Zeitpunkt ihrer Herstellung bis zur Ausbildung von Hüten am Regenerat. Erste Bestimmung unmittelbar nach dem Verwachsen der Ausgangsteile („Tag 0"), dann am 10. und am 21. Tage danach. — 38 Transplantate je Probe

Es zeigte sich, daß in den Rhizoiden und ursprünglichen Hinterstücken der Gehalt an RNS (Abb. 3 und 4) und an löslichen Proteinen im Hinterstück (Abb. 3) weitgehend unverändert blieb; für den Regeneratzuwachs war dagegen eine deutliche Korrelation von Wachstum, RNS- und Proteinvermehrung charakteristisch.

In einer anderen Versuchsserie wurde zusätzlich der RNS-Gehalt der Rhizoide und gealterten Hinterstücke *vor* der Pfropfung bestimmt. Ein Vergleich mit den Werten, die von Teilstücken des gleichen Ausgangsmaterials *nach* Verwachsung von Hinterstück und Rhizoid erhalten wurden, zeigt, daß während des Verwachsungsprozesses keine wesentliche Veränderung im RNS-Spiegel erfolgt war. Das gleiche darf wohl auch für den Proteingehalt angenommen werden (Abb. 5). Hinsichtlich der Zunahme von RNS und löslichen Proteinen im Regenerat bzw. Nichtzunahme im gealterten Hinterstück und im Rhizoid ergaben sich gleiche Verhältnisse wie bei den in Abb. 3 und 4 dargestellten Versuchen.

Um Aufschluß darüber zu erhalten, wie sich die Entfernung des Kerns auf die induzierte Regeneration auswirkt, wurden in einem anderen Versuch — 10 Tage nach Herstellung der Transplantate — bei einem Teil derselben das aufgepfropfte und inzwischen festverwachsene Rhizoid abgeschnitten; in entsprechenden Stadien war zuvor der RNS-Gehalt ermittelt worden. Am „Tage 20" erfolgten dann weitere Bestimmungen im Regeneratzuwachs rhizoidamputierter und vollständiger Transplantate. Wie aus Abb. 6 hervorgeht, wurde die RNS-Synthese im „kernlosen Regenerat" mit der Abtrennung des Kerns sistiert;

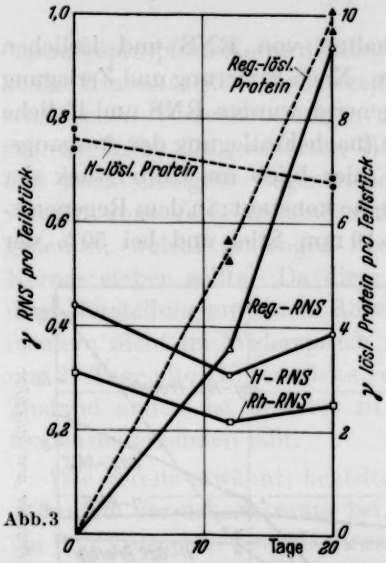


Abb. 3

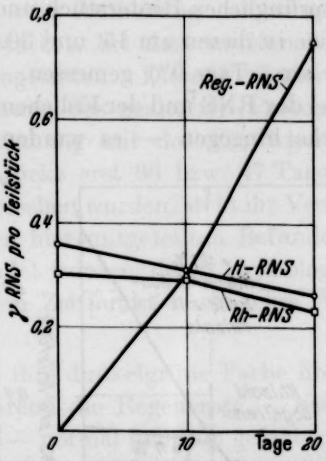


Abb. 4

Abb. 3. Das Verhalten von *RNS* im Rhizoid (*Rh* □), im ursprünglichen Hinterstück (*H* ○) und im Regenerat (*Reg.* △) von Transplantaten über 20 Tage. — Am Versuchstage Fixierung von je 40 Transplantaten und Zerlegung derselben in ihre Teilstücke; anschließend Messung des RNS-Gehaltes in diesen. — Parallel hierzu Bestimmungen der löslichen Proteine im Hinterstück (*H*, ●———●) und im Regenerat (*Reg.*, ▲———▲) nach Zerlegung der Transplantate in Seewasser (12 Teilstücke je Probe)

Abb. 4. Entspricht Abb. 3, jedoch nur RNS-Bestimmung; abweichend davon ist bei dieser Serie nur der Herstellungsmodus der Transplantate: Es wurden nämlich in diesem Falle die Hinterstücke und später auch die Rhizoide von Pflanzen der gleichen Anzucht hergestellt

Abb. 5. Entspricht Abb. 3. Zusätzlich wurde bei dieser Serie auch der RNS-Gehalt in Rhizoiden und Hinterstücken bestimmt, wie sie zur Herstellung der Transplantate verwendet wurden. Die nächsten entsprechenden Messungen erfolgten dann wie gewöhnlich unmittelbar nach dem Verwachsen der Teile („Tag 0")

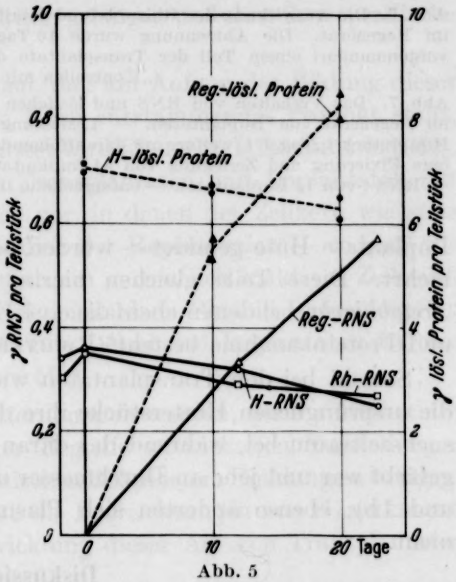


Abb. 5

die Fähigkeit zur Hutbildung blieb jedoch weitgehend erhalten; zu Versuchsende hatten immerhin die untersuchten Transplantate beider Kategorien gleich viel Hüte regeneriert (62%). Hinsichtlich des Stielwachstums waren dagegen die kernlos gemachten Systeme deutlich unterlegen; ihre Proteinvermehrung wurde nicht untersucht, jedoch ist sicher, daß es in solchen Teilen zu einer erheblichen Zunahme der Proteine kommt (vgl. HÄMMERLING et. al. 1958).

Abb. 7 schließlich zeigt das Verhalten von RNS und löslichen Proteinen in den Teilen von *Implantaten*. Nach Fixierung und Zerlegung in ursprüngliches Hinterstück und Regenerat wurden RNS und lösliche Proteine in diesen am 15. und 30. Tage (nach Festlegung der Ausgangswerte am „Tage 0") gemessen. Auch hier blieb im Hinterstück der Spiegel der RNS und der löslichen Proteine konstant; in dem Regeneratzuwachs hingegen — es wurden 11—16 mm Stiel und bei 50% der

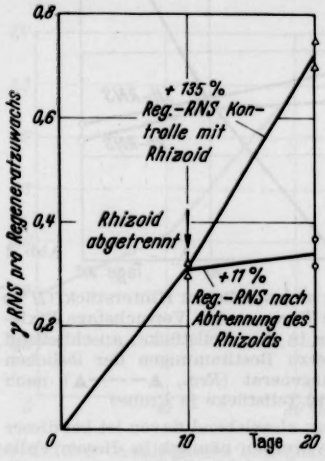


Abb. 6

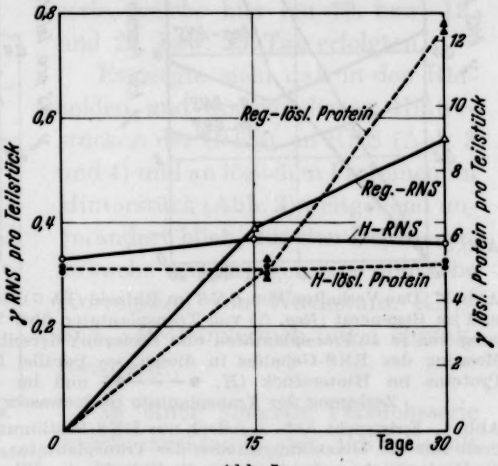


Abb. 7

Abb. 6. Die Auswirkung der Rhizoid- (und damit Kern-) Entfernung auf die RNS-Synthese im Regenerat. Die Abtrennung wurde 10 Tage nach Verwachsung der Ausgangsteile vorgenommen; einem Teil der Transplantate dieser Serie wurde das Rhizoid belassen („Kontrollen mit Rhizoid")

Abb. 7. Das Verhalten von RNS und löslichen Proteinen im alten Hinterstück (*H*) und im Regenerat von Implantaten. — 1. Messung sofort nach Injektion des Kerns in das Hinterstück („Tag 0"), weitere am darauffolgenden 15. und 30. Tag. Jeweils am Versuchstage Fixierung und Zerlegung von 44 Implantaten in Hinterstücke und Regenerate zur RNS-, von 15 Implantaten — entsprechend in Seewasser — zur Proteinbestimmung

Implantate Hüte gebildet — wurden beide Fraktionen gleichmäßig vermehrt. Diese Teile gleichen hierin normal wachsenden Zellen von *Acetabularia*, bei denen ebenfalls eine Korrelation von Wachstum, RNS- und Proteinzunahme besteht (RICHTER 1959).

Sowohl bei den Transplantaten wie bei den Implantaten behielten die ursprünglichen Hinterstücke ihre dunkelgrüne Farbe über den Versuchszeitraum bei, während das daran entstehende Regenerat hellgrün gefärbt war und jene an Durchmesser und Länge übertraf (vgl. Abb. 1a und 1b); ebenso änderten sich Plasmakonsistenz und Membrandicke nicht.

Diskussion

Ausgehend von den ersten Versuchen an „Alterstransplantaten" hatte HÄMMERLING (1934, S. 74ff.) schon festgestellt, daß unter dem Einfluß

des aufgepfropften Kerns die Regeneration am freien Ende des ursprünglichen Hinterstückes einzusetzen beginnt. Bei einem der von ihm beschriebenen Versuche erfolgte zuvor eine Aufhellung der schmutziggrünen Farbe des gealterten Hinterstückes, bei dem zweiten war sie erst nach erfolgter Regeneration eingetreten. Diese Veränderungen wurden vom Verf. als eine Auffrischung des gealterten Protoplasten gedeutet, welche im engen Zusammenhang mit der Einwirkung des Kernes stehen sollte. Da diese Teilstücke erst 66 bzw. 47 Tage nach ihrer Herstellung mit einem Rhizoid versehen wurden, steht ihr Verhalten insofern nicht im Widerspruch zu den hier mitgeteilten Befunden, als nur 21 Tage alte Hinterstücke verwendet wurden, deren physiologischer Zustand anders ist und bis zu diesem Zeitpunkt noch keine Abbautendenzen erkennen läßt.

Wie bereits erwähnt, behielten sie ihre dunkelgrüne Farbe über den gesamten Versuchszeitraum bei, während die Regenerate — wie auch bei den Versuchen von HÄMMERLING — normal hellgrün gefärbt waren.

HÄMMERLING hatte aus seinen Befunden — im Zusammenhang mit einem weiteren besonders demonstrativen Ergebnis (s. 1934, S. 57) — den Schluß gezogen, daß die mit der Formbildung verknüpfte Substanzproduktion vor allem an der Spitze des wachsenden Systems lokalisiert ist. Für die Auslösung der Formbildung sollten dagegen „formbildende Stoffe" verantwortlich sein, welche nach Wanderung durch das Cytoplasma an den Ort der Regeneration gelangen und dort ihre spezifische Wirkung entfalten.

Neuere Versuche haben ergeben, daß am Anfang der Bildung dieser Substanzen ein unmittelbar dem Kern entstammendes Produkt steht, welches ins Cytoplasma ausgeschüttet wird (J. u. CH. HÄMMERLING 1959). Dementsprechend liegen bei den Transplantaten und Implantaten mit gealterten Hinterstücken Systeme vor, in denen der Zellkern wie stets vom Orte seiner Wirkung — nämlich der Regeneration — so weit wie möglich, zusätzlich aber noch durch ein vermutlich inaktives Zellstück getrennt ist. Eine Wanderung des mit dem Rhizoid aufgepfropften Kernes findet bekanntlich nicht statt. Auch bei Implantaten ist dies nicht der Fall (HÄMMERLING unveröff.).

Es muß nun der Versuch unternommen werden, diese zunächst auf der Basis chemisch undefinierter Begriffe entwickelten Vorstellungen mit den hier mitgeteilten biochemischen Befunden in Einklang zu bringen. Zunächst sei vorausgeschickt, daß die Beobachtungen von HÄMMERLING hinsichtlich Leistung und Entwicklung dieser Art von Transplantaten bestätigt werden konnten.

Das unveränderte Verhältnis von RNS zu löslichen Proteinen, wie es in den gealterten Hinterstücken trotz Aufpfropfung bzw. Injektion

eines aktiven Kerns festgestellt wurde, erlaubt zunächst zwei Deutungsmöglichkeiten: 1. Der Protoplast ist in synthetischer Hinsicht resp. RNS- und Proteinsynthese inaktiv und fungiert gewissermaßen nur als Leitsystem für Substanzen, die ihren Ursprung im Kern haben und schließlich am freien Ende zur Auslösung von Synthesevorgängen führen, und 2. der konstante Gehalt an beiden Substanzen ist nur der äußere Ausdruck eines dynamischen Gleichgewichts: RNS und lösliche Proteine werden zwar im Bereich des gealterten Hinterstückes unter Kerneinwirkung nach Maßgabe der ablaufenden Regeneration vermehrt, ihre Zunahme tritt aber nach außen nicht in Erscheinung, da sie ausschließlich dem entstehenden Regeneratzuwachs zufließen.

Zwei Argumente sprechen gegen die Realität des zweiten Mechanismus: einmal die Beibehaltung des Mengenverhältnisses RNS:löslichen Proteinen, welches in dieser Form in normalen kernhaltigen Zellen nicht vorliegt; in den aus ihnen hergestellten kernlosen Teilstücken kommt es nämlich bei konstantem RNS-Spiegel (RICHTER 1957) u. a. zu einer erheblichen Zunahme der Proteine; diese hört nach etwa 20 Tagen auf (vgl. HÄMMERLING et. al. 1958). Die für Transplantate und Implantate verwendeten gealterten Hinterstücke haben demnach im Vergleich zu normalen oder frisch hergestellten kernlosen Zellen einen zu hohen Proteingehalt bezogen auf ihren RNS-Anteil. Wenn dieses an sich abnorme Verhältnis nun unter kernbedingter Regeneration erhalten bleibt, so spricht diese Tatsache gegen eine Wiederaufnahme irgendwelcher Nettosynthesen beider Substanzen im Bereich des alten Hinterstückes. Gegen diese spricht auch als zweites Argument die Beibehaltung des ursprünglichen Zustandes des aufgepfropften Hinterstückes hinsichtlich Färbung, Plasmakonsistenz und Morphologie.

Weiterhin bestätigen die Befunde, daß für den vollständigen und erfolgreichen Ablauf des Regenerationsvorganges auch hier die dauernde Anwesenheit bzw. Aktivität des Zellkerns unerläßlich ist. Zwar geht die Formbildung (Stielwachstum, Bildung von Wirteln und Hüten) des Regenerates bei den Transplantaten nach Abtrennung des Kerns zunächst weiter; sie wird jedoch bald eingestellt und erreicht in keinem Falle die Leistung entsprechender kernhaltiger Systeme. Jene „kernlosen Transplantate" gleichen in dieser Hinsicht normalen kernlosen Zellen, welche bekanntlich nach Kern-Entfernung ebenfalls noch in erheblichem Maße Stielwachstum, Wirtel- und Hutbildung zeigen (HÄMMERLING 1934).

Auch wenn man die Auswirkungen der Kern-Entfernung auf die RNS-Synthese im Regeneratzuwachs der Transplantate bzw. Implantate verfolgt, so ergeben sich dieselben Effekte wie beim gleichen Eingriff an normalen *Acetabularia*-Zellen: Nur in Gegenwart des Kerns kann eine Nettosynthese von RNS erfolgen und ihre Korrelation mit der Vermehrung der löslichen Proteine aufrechterhalten werden (vgl. dazu

Richter 1959. Die Angaben von Brachet u. Mitarb. 1955, wonach auch in kernlosen Teilen eine RNS-Nettosynthese erfolgen soll, haben sich nicht bestätigen lassen). Auch bei der kerninduzierten Regeneration ist für den Ablauf der RNS-Synthese die dauernde Anwesenheit des Kerns notwendig.

Die hier mitgeteilten Befunde stehen in Übereinstimmung mit der Annahme, daß Substanzen aus dem Kern in das Cytoplasma abgegeben werden und dort apikalwärts zu wandern vermögen. Dabei spielt es offensichtlich keine Rolle, ob diese Wanderung in einem normalen oder in einem abgeänderten Protoplasten erfolgt. Die an der Stielspitze wirksamen Substanzen sind unter dem Begriff der „morphogenetischen Substanzen" zusammengefaßt; sie lassen sich noch nicht chemisch definieren. Auch die Natur der vom Kern abgegebenen spezifischen Substanzen muß noch unbekannt bleiben. Geht man von der Annahme aus, daß es sich dabei um hochpolymere Verbindungen handelt, so wäre an RNS oder auch an Proteine zu denken. Jedoch sind Erwägungen dieser Art zunächst noch spekulativer Natur. Für Einzelheiten zu diesen Fragen kann hier auf Hämmerling u. Mitarb. (1958) sowie J. u. Ch. Hämmerling (1959) verwiesen werden.

Über entsprechende Untersuchungen an Transplantaten mit *artfremden* Rhizoiden wurde an anderer Stelle berichtet (Richter 1958b).

Summary

By grafting a rhizoid with its nucleus onto one end of an enucleate posterior part of *Acetabularia* 21 days after enucleation ("transplantation" — those parts do not show any morphogenetic capacity or net synthesis— or by injecting an isolated nucleus into it ("implantation"), regeneration occurs at the opposite end of the old enucleate part after a few days: a new stalk, whorls and finally a cap are formed. During the whole process there is a typical difference in morphology and colour of the former enucleate part and the newly formed regenerate. No changes occur in the amount of RNA and soluble cytoplasmic proteins of the former enucleate parts during 20—23 days whereas the growing regenerate shows a linear increase of both substances during the same time; thus it behaves like a normal growing nucleated cell of *Acetabularia*. Removal of the nucleus by cutting off the rhizoid from the graft has the same effects as enucleation of normal cells: the net synthesis of RNA in the regenerate ceases, protein synthesis and morphogenetic capacity continue to function for a limited time.

Literatur

Beth, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkungen des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen Acetabularia-Zellen. Z. Naturforsch. 8b, 334—342 (1953). — Brachet, J., H. Chantrenne et F. Vanderhaeghe:

Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. Acetabularia mediterranea. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — HÄMMERLING, J.: Entwicklung und Formbildungsvermögen von Acetabularia mediterranea. Biol. Zbl. **52**, 42—61 (1932). — Über formbildende Substanzen bei Acetabularia mediterranea, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81(1934).— Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Neuere Versuche über Polarität und Differenzierung bei Acetabularia. Biol. Zbl. **74**, 545—554 (1955). — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6**, 210—226 (1958). — HÄMMERLING, J., u. CH. HÄMMERLING: Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. Planta (Berl.) **52**, 516—527 (1959). — LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL: Protein measurement with the Folin reagent. J. biol. Chem. **193**, 265—276 (1951). — OGUR, M., and G. ROSEN: The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. Arch. Biochem. **25**, 262—276 (1950). — RICHTER, G.: Diss. Marburg a. d. Lahn 1956. — Zur Frage der RNS-Synthese in kernlosen Teilen von Acetabularia. Naturwiss. **44**, 520—521 (1957). — RICHTER, G.: Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von Acetabularia mediterranea. Planta **52**, 259—275 (1958a). — Naturwiss. **45**, 629—630 (1958b). — Die Auswirkungen der Zellkern-Entfernung auf die Synthese von Ribonukleinsäure und Cytoplasma-Proteinen bei Acetabularia mediterranea. Biochim. biophys. Acta 1959 (im Druck). — WERZ, G.: Membranbildung bei kernlosen wachsenden und nicht wachsenden Teilen von Acetabularia mediterranea. Z. Naturforsch. **12**b, 739—740 (1957).

Dr. GERHARD RICHTER, Research Institutes, University of Chicago, 5650 Ellis Avenue, Chicago 37 Ill./(USA)

Planta, Bd. 52, S. 565—582 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

PHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER EINIGE FLAVONOIDE UND OXYZIMTSÄUREN

II. Mitteilung:
UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN JAHRESZEITLICHEN UND TAGESPERIODISCHEN VERLAUF DER STOFFBILDUNG

Von

ROSMARIE URBAN

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Oktober 1958)

I. Einleitung

In einer bereits erschienenen Veröffentlichung („Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren" 1. Teil, 1958) hatten wir über das Auftreten bestimmter Flavonoide und Oxyzimtsäuren in den Laubblättern von *Hedera helix*, *Zea mays*, *Triticum vulgare* und *Helianthus annuus* berichtet.

Um gemäß der Fragestellung unserer Untersuchungen einen Einblick in die normalen Vorgänge des Phenolstoffwechsels und alle mit ihm verknüpften sekundären Zellreaktionen in den Blattorganen zu erhalten, war es zunächst nötig, an den erwählten Versuchsobjekten den jahreszeitlichen und tagesperiodischen Verlauf der Sekundärstoffbildung zu verfolgen. Damit wurde eine quantitative Erfassung der in Teil I aufgeführten und charakterisierten Flavonoidkomponenten und verwandten Oxyzimtsäureabkömmlingen erforderlich.

II. Methodisches

1. Papierchromatographische Methode für quantitative Untersuchungen

Die Papierchromatographie kann in bestimmten Grenzen heute als quantitative Methode angewendet werden (CRAMER 1953, LINSKENS 1955, PAECH-TRACEY 1955).

Für die quantitative Bestimmung der Einzelkomponenten des Blattrohextraktes ist es notwendig,

1. ein wohldefiniertes Ausgangsmaterial einer erschöpfenden Extraktion zu unterziehen,
2. die Extraktionslösung auf ein bekanntes Volumen zu bringen,
3. diese zu analysierende Lösung in definierter Menge auf das Papier aufzutragen.

3 oder 5 g frisch geerntetes Blattmaterial (Blättchen, deren Spitze und Blattgrund sowie Stiel und Mittelrippe abgetrennt und verworfen worden waren) wurde durch Zerreiben mit Quarzsand im Mörser homogenisiert und mit kaltem Methanol extrahiert. Der Rohextrakt mußte von pflanzlichen Rückständen und dem Quarzsand durch Abnutschen befreit und wegen zu starker Verdünnung im Vakuum

unter Stickstoff bei höchstens 35° C bis auf 20 ml eingeengt werden. Von dieser Ausgangslösung wurden auf das Papierchromatogramm mit einer Mikropipette je nach Konzentration der vorliegenden Substanzen 0,1 oder 0,2 ml nach dem Anreicherungsverfahren (häufiges Trocknen mit einer Heißluftdusche) auf je mehrere Einzelspots aufgetragen und wie üblich entwickelt. Die Stellen maximaler Stoffkonzentration der Einzelspots auf dem entwickelten Papierchromatogramm wurden sorgfältig markiert, denn diese Bezirke brachten wir unmittelbar gegen eine entsprechende Papierleerprobe im Unicam-Spektralphotometer (Sekundärelektronen-Vervielfachereinrichtung des Unicam SP 500) zur Messung. Dieses Vorgehen ist dadurch gerechtfertigt, daß die Lichtabsorption an den dichtesten Stellen symmetrisch ausgebildeter Spots in engeren Grenzen proportional der gesamten darin enthaltenen Stoffmenge ist. Wir legten für die einzelnen Substanzen die bei Messungen auf dem Papier etwas zu längeren Wellen hin verschobenen Hauptmaxima durch wiederholte Prüfungen fest. An diesen ermittelten Maxima wurde die Extinktion bestimmt, die uns dann bei den quantitativen Versuchen als direktes Maß für die Konzentration der vorliegenden Substanz diente.

Aus den Extinktionswerten kann ohne weiteres auch die Angabe der absoluten Menge der Substanz in mg/g Frischgewicht oder Trockengewicht erfolgen, soweit man im Besitz des jeweiligen Stoffes in kristallinem Zustand ist. Mit Hilfe einer Eichkurve, die die Extinktion auf dem Papier für z. B. je 0,01 ml aufgetragener 0,005- bis 2%iger Lösung des Stoffes angibt, ermittelt man die Konzentration und bezieht diese auf das Volumen des Rohextraktes. Die absolute Menge an Pigment ergibt sich dann aus der Formel:

$$W = \frac{c \cdot v \cdot x}{100 \cdot z}.$$

W = Gewicht des Pigments in g, c = Konzentration der Probe in g/100 ml, v = Volumen des Rohextraktes in ml, x = im PC[1] aufgetragene Extraktmenge in ml, z = Ausgangsfrischgewicht in g.

Da uns von den quantitativ erfaßten Substanzen nur ein geringer Teil, nämlich das Flavonol Rutin, die Oxyzimtsäure Kaffeesäure und ihr Depsid Chlorogensäure, kristallin zur Verfügung stand, wollen wir in dieser Arbeit auf die absolute Mengenangabe dieser Stoffe noch verzichten und sie der Einheitlichkeit halber in den tabellarischen und kurvenmäßigen Darstellungen wie die übrigen Verbindungen im relativen Maß ihrer jeweiligen Extinktionswerte darstellen. Nur vereinzelt sind absolute Mengenangaben angeführt.

Eine mehrmalige Prüfung dieser quantitativen papierchromatographischen Methode an gleichem Ausgangsmaterial (z. B. Blatthälften oder Blattviertel) ergab einerseits für den Extraktionsvorgang und andererseits für die chromatographische Aufarbeitung Abweichungen von 0,5 bis 5% (siehe dazu Tabelle 1).

In unseren Untersuchungen wurde nach dieser Prüfung der Methode eine Zu- bzw. Abnahme an Substanz nur als reell angesehen, wenn der Fehlerbereich von $\pm 2{,}5\%$ klar überschritten war.

2. Bezugsgröße

Als Bezugsgröße gaben wir in unseren Untersuchungen dem Frischgewicht gegenüber dem Trockengewicht und der Blattfläche den Vorzug. Bei den relativ großen Mengen an Ausgangsmaterial (3 bis 5 g) ließ sich das Frischgewicht am schnellsten und zuverlässigsten ermitteln. Die, bezogen auf das Ausgangsgewicht,

[1] PC = Papierchromatogramm.

Tabelle 1. *Beispiel einer Prüfung der Bestimmungsmethode für die Einzelkomponenten bei Zea mays*

	Substanz W		Substanz Bl		Substanz N		Substanz H	
	E. bei λ_{342}	Δ m in %	E. bei λ_{337}	Δ m in %	E. bei λ_{325}	Δ m in %	E. bei λ_{320}	Δ m in %
Rechte Blatthälfte	0,585	0,5	0,371	2,5	0,668	4,55	0,985	2,35
Linke Blatthälfte .	0,591		0,349		0,610		1,032	
Rechte Blatthälfte	0,615	0,82	0,36	3,1	0,614	3,9	1,035	0,29
Linke Blatthälfte .	0,605		0,338		0,568		1,03	

E. = Extinktion, Δ m = Abweichung, $\lambda \ldots$ = gemessen in mμ.

geringen zeitlichen Schwankungen des Wassergehaltes der Blattorgane während eines Tages oder im Laufe der Vegetationsperiode beeinträchtigten das Ergebnis nicht über die angesetzte Fehlergrenze hinaus. Das Trockengewicht wendeten wir als Bezugsgröße deshalb nicht an, weil

1. nach Angaben von Esdorn und Nöll (1955), Couch, Naghski und Krewson (1946) und Paris (1949) sowie eigenen Befunden (Tabelle 2) beim Trocknen ein beträchtlicher Flavonoidverlust auftritt und

2. die quantitative Extraktion bei trockenem Material sehr viel langwieriger und ungenauer ist (die gl. Autoren).

Tabelle 2. *Vergleich zwischen Frisch- und Trockenextrakten (Hedera helix* C, alte Blätter 23. 5. 1956)

		Rutin E. bei λ_{360}	Scopolin E. bei λ_{334}	Chlorogensäure E. bei λ_{330}	Kaffeesäure E. bei λ_{325}
Sonnenblätter	kalte Extraktion	1,30	0,443	1,310	0,132
	heiße Extraktion	1,055	0,391	1,30	0,088
Schattenblätter	kalte Extraktion	1,12	0,508	1,28	0,453
	heiße Extraktion	0,94	0,470	1,27	0,276

Die Ermittlung der Blattfläche als verwendbare Bezugsgröße ließ sich in unserem Falle bei den im Jugendstadium schmalen Weizen- und Maisblättchen nur schwierig durchführen.

III. Ergebnisse

1. Der jahreszeitliche Verlauf der Stoffbildung

Hedera helix. An dem Objekt *Hedera helix* vom Standort C (Heidelberg-Eselsgrund) konnte der jahreszeitliche Verlauf der Bildung von Rutin, Kaffeesäure, Chlorogensäure und Scopolin sowohl an extrem im Schatten wachsenden Blättern (Serie I) als auch der Sonne exponierten Blättern (Serie II) verfolgt werden. In beiden Serien beobachteten wir jeweils Blätter des diesjährigen Austriebes (Frühjahr 1956, Serie Ib und IIb) neben den schon überwinterten vorjährigen Blättern (1955/56, Serie Ia und IIa) (s. Tabelle 3).

Tabelle 3. *Jahreszeitlicher Verlauf der Stoffbildung in Hedera helix-Blättern.* (Je 3 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC)

Datum der Analysen 1956	Rutin E. bei λ_{360}				Scopolin E. bei λ_{334}				Chlorogensäure E. bei λ_{330}				Kaffeesäure E. bei λ_{325}			
	Ia	IIa	Ib	IIb	Ia	IIa	Ib	IIb	Ia	IIa	Ib	IIb	Ia	IIa	Ib	IIb
18. 3.	0,85	1,62	—	—	—	—	—	—	1,35	1,50	—	—	1,35	0,58	—	—
15. 4.	1,09	1,42	—	—	—	—	—	—	1,36	1,30	—	—	0,75	0,21	—	—
6. 5.*	1,07	1,06	0,013	0,029	—	—	—	—	1,26	1,23	0,50	0,46	0,53	0,08	0,32	0,18
13. 5.	—	—	0,018	0,046	—	—	1,08	1,19	—	—	0,53	0,63	—	—	0,71	0,41
23. 5.	1,11	1,36	0,036	0,108	0,47	0,45	0,086	0,09	1,27	1,25	0,53	0,81	0,46	0,13	0,56	0,236
31. 5.	—	—	0,024	0,097	—	—	0,061	0,06	—	—	0,66	0,73	—	—	0,34	0,25
6. 6.	1,27	1,30	0,02	0,052	0,29	0,39	0,163	0,172	1,25	1,20	0,46	0,68	0,48	0,307	0,294	0,22
16. 6.	1,16	1,22	0,023	0,031	0,61	0,37	0,392	0,22	1,30	1,27	0,42	0,61	0,59	0,102	0,214	0,142
27. 6.	—	—	0,09	0,100	—	—	0,36	0,28	—	—	0,475	0,498	—	—	0,226	0,214
7. 7.	0,93	1,53	0,92	1,225	0,36	0,50	0,32	0,358	1,27	1,42	1,30	1,35	0,41	0,177	0,282	0,158
17. 7.	1,42	1,58	0,98	0,98	0,69	0,46	0,46	0,36	1,50	1,50	1,36	1,42	0,69	0,255	0,356	0,18
29. 7.	1,70	1,79	0,49	0,84	0,79	0,69	0,29	0,39	1,38	1,39	0,97	1,26	0,68	0,266	0,197	0,17
12. 8.	1,40	1,62	1,67	0,90	0,74	0,67	0,445	0,42	1,45	1,48	1,21	1,36	0,57	0,212	0,148	0,23
26. 8.	1,58	1,56	0,72	0,93	0,89	0,78	0,301	0,43	1,52	1,52	0,99	1,47	0,58	0,22	0,20	0,186
10. 9.	1,59	1,56	0,95	1,17	0,92	0,55	0,286	0,53	1,50	1,40	1,28	1,43	0,55	0,213	0,19	0,206

Ia = Schattenblätter überwintert; Ib = Schattenblätter diesjähriger Austrieb; IIa = Sonnenblätter überwintert; IIb = Sonnenblätter diesjähriger Austrieb.

* Neuaustrieb 1956.

Tabelle 4. *Vergleichsanalysen aus Treibhaus- und Freilandblättern* (*Hedera helix:* Je 3 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC)

Analysenprobe	Rutin E. bei λ_{360}	Scopolin E. bei λ_{334}	Chlorogensäure E. bei λ_{330}	Kaffeesäure E. bei λ_{325}
1. Treibhausblätter . .	0,053 = 0,073 mg/g Fr.	0,165 —	0,735 —	0,182 = 0,05 mg/g Fr.
Freilandblätter . . 29. 7.	1,175 = 7 mg/g Fr.	0,320 —	1,450 —	0,485 = 0,223 mg/g Fr.
2. Treibhausblätter . .	0,051 = 0,066 mg/g Fr.	0,172 —	0,860 —	0,200 = 0,0566 mg/g Fr.
Freilandblätter . . 26. 8.	1,633 = 5,5 mg/g Fr.	0,455 —	1,410 —	0,505 = 0,235 mg/g Fr.

Die im Teil I dieser Arbeit bereits erwähnte starke Stoffneubildung, wie sie für alle erfaßten Komponenten bei *Hedera helix* einsetzt, wenn man Ableger eines Treibhausstrauches ins Freiland bringt, wurde quantitativ erfaßt (Tabelle 4). Erste Vergleichsanalyse nach 2monatigem Auspflanzen ins Freiland, zweite nach rund 3monatigem Wachstum im Freien.

Aus den absoluten Mengenangaben wird ersichtlich, daß der Rutingehalt um etwa das 100fache ansteigt, der Kaffeesäuregehalt allerdings nur um das 4—5fache.

Helianthus annuus. Bei *Helianthus* konnte der Verlauf der Stoffbildung mit zunehmendem Alter der Pflanzen (Austrieb, Blühperiode, Fruchtreife) bei im Freiland und unter Glas gewachsenen Pflanzen verfolgt werden. Die Sonnenblattanalysen setzten bei *Helianthus*, *Zea mays* und *Triticum* erst bei einem Alter der Pflanzen von 23 bzw. 51 Tagen ein, da während des 1. bis 23. Tages entweder nur Spuren von Flavonoiden vorhanden waren (Treibhausserie) oder das Chlorophyll der jungen Blätter eine chromatographische Trennung der Einzelkomponenten behinderte (starke Schwanzbildung) (Tabelle 5).

Da die Versuche der Freiland- und Treibhausserie nicht synchron zueinander angesetzt waren, versuchten wir, die Unterschiede im Gehalt von Flavonoiden und Zimtsäurederivaten bei einem Treibhaus-Freilandwechsel nochmals an einigen Treibhauspflanzen zu demonstrieren, die ohne schädigenden Eingriff durch Umpflanzen in ihren Töpfen ins Freiland gebracht wurden (Tabelle 6).

Wie wichtig die Beachtung der Gleichaltrigkeit der Blätter bei der Auswahl des zu vergleichenden Materials im Hinblick auf die Stoffneubildung ist, geht aus Tabelle 7 hervor. Es wurden 50 Tage alte Treibhauspflanzen zu den Analysen herangezogen und von ihnen in akropetaler Folge die sich entsprechenden Blätter entnommen.

Tabelle 5. *Jahreszeitlicher Verlauf der Stoffbildung in Helianthus-Blättern*

Alter der Pflanze	Haupt-Flavonoid E. bei λ_{335}	Scopolin E. bei λ_{334}	Chlorogensäure E. bei λ_{330}	Kaffeesäure E. bei λ_{335}
Treibhauspflanzen. Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC. Beginn der Analysen: 15. 4. 56				
23 Tage	0,066	0,065	0,092	0,115
34 Tage	0,082	0,072	0,116	0,132
45 Tage	0,152	0,124	0,332	0,124
50 Tage	0,379	0,142	0,262	0,438
54 Tage	0,245	0,170	0,568	0,200
60 Tage	0,722	0,122	0,228	0,350
72 Tage (Blüte)	0,143	0,207	0,766	0,314
83 Tage	0,457	0,389	1,050	0,680
94 Tage	0,644	0,592	1,250	1,080
103 Tage (Fruchtansatz)	0,389	0,318	0,840	0,690
Freilandpflanzen. Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC. Beginn der Analysen: 6. 6. 56				
51 Tage	0,550	0,135	0,201	0,474
61 Tage	0,680	0,161	0,270	0,272
73 Tage	0,256	0,137	0,870	0,305
82 Tage (Blüte)	0,480	0,207	0,890	0,390
93 Tage	0,502	0,385	1,190	0,800
105 Tage	0,550	0,455	0,930	0,620
115 Tage (Fruchtansatz)	0,505	0,340	1,225	0,562
126 Tage	0,570	0,360	1,075	0,540
137 Tage (Fruchtreife)	0,590	0,402	1,290	0,650

Tabelle 6. *Vergleichsanalysen von Treibhaus- und Freiland-Blättern* (*Helianthus annuus:* Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC)

	Haupt-Flavonoid H_1 E. bei λ_{335}	Scopolin E. bei λ_{334}	Chlorogensäure E. bei λ_{330}	Kaffeesäure E. bei λ_{335}
Ausgangsanalyse 45 Tage alt; 10. 5. 56 Treibhauspflanzen	0,152	0,124	0,332	0,124
1. Vergleichsanalyse 83 Tage alt				
Treibhauspflanzen	0,54	0,389	1,05	0,68
Freilandpflanzen	0,59	0,408	1,43	0,664
2. Vergleichsanalyse 103 Tage alt				
Treibhauspflanzen	0,389	0,318	0,84	0,69
Freilandpflanzen	0,643	0,495	1,05	0,81

Die Ergebnisse der Tabelle 7 lassen sich dahingehend deuten, daß den Primärblättern die maximale Synthesefähigkeit noch nicht zukommt, die wir bei Folgeblättern beobachten. Für letztere steigt mit zunehmendem Alter der Gehalt an den Einzelsubstanzen an, so daß das ausgewachsene Folgeblatt 1 höhere Werte aufweist als das gerade erst entfaltete Folgeblatt 3.

Tabelle 7. *Auswirkungen der Verschiedenaltrigkeit der Blätter auf ihren Flavonoidgehalt* (*Helianthus annuus:* Je 3 g Frischgewicht; 10 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC)

Akropetale Blattfolge	Haupt-Flavonoid H_1 E. bei λ_{335}	Scopolin E. bei λ_{334}	Chlorogensäure E. bei λ_{330}	Kaffeesäure E. bei λ_{335}
Primärblätter (ausgewachsen)	0,352	0,138	0,232	0,454
1. Folgeblatt (ausgewachsen)	0,997	0,223	0,46	0,743
2. Folgeblatt (noch wachsend)	0,477	0,114	0,314	0,443
Jüngstes Blatt von der Sproßspitze (gerade erst entfaltet)	0,33	0,051	0,12	0,153

In diesem Zusammenhang muß auf die gegensätzlichen Aussagen von AHLGRIMM (1955) hinsichtlich der Rutinbildung bei *Fagopyrum* hingewiesen werden. AHLGRIMM stellte fest, daß der Rutingehalt um so höher liegt, je später ein Blatt an der Pflanze gebildet wird. So enthält das letzte vor der Blüte gebildete Blatt fast doppelt so viel Rutin wie das Primärblatt. Der höhere Rutingehalt des jüngsten Folgeblattes gegenüber dem des Primärblattes ließe sich unserer Meinung nach aber auch daraus erklären, daß die Rutinbildung im Primärblatt durch die unterschiedliche Organisation gehemmt erscheint (Primärblatt relativ kurzlebig, Parenchym abweichend gestaltet usw.).

Zea mays. Bei *Zea mays* wurden die analogen Versuchsserien wie bei *Helianthus* angelegt. An Freiland- und Treibhauspflanzen ermittelten wir den Gehalt an den Zimtsäurederivaten W und Bl und den Flavonen N und H über die Vegetationsperiode hin (Tabelle 8). Ebenfalls wurden wieder Treibhauspflanzen ins Freie gebracht und ihre physiologische Umstellung beobachtet (Tabelle 9).

Triticum vulgare. Da sich der Weizen für eine Treibhauskultur ungeeignet zeigte, verzichteten wir auf die Auswertung einer solchen Versuchsserie. An Freilandpflanzen wurde nur eine orientierende Untersuchung über eine Ab- und Zunahme der Flavone Tricin und N_1, sowie des Scopolins während der vegetativen Wachstumsperiode durchgeführt (Tabelle 10).

Was sagen die in Tabelle 3—10 zusammengestellten Analysenergebnisse aus?

In den überwinterten Blättern von *Hedera helix* (Ia, IIa) ist vom Sommer bis in den Herbst hinein eine geringe Steigerung des Rutingehaltes wahrzunehmen. Anstieg des Rutingehaltes während der Monate Mai bis Juli 1956 in absoluter Mengenangabe:

Ia von 5,7 mg/g Frischgewicht auf 6,93 mg/g Frischgewicht,
IIa von 5,3 mg/g Frischgewicht auf 9,52 mg/g Frischgewicht,
Ib von 0,02 mg/g Frischgewicht auf 2,83 mg/g Frischgewicht,
IIb von 0,04 mg/g Frischgewicht auf 7,66 mg/g Frischgewicht.

Tabelle 8. *Jahreszeitlicher Verlauf der Stoffbildung in Zea mays-Blättern*

Alter der Pflanze	Substanz W E. bei λ_{342}	Substanz Bl E. bei λ_{337}	Substanz N E. bei λ_{355}	Substanz H E. bei λ_{350}
Treibhauspflanzen. Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC. Beginn der Analysen: 15. 4. 56				
23 Tage . . .	0,712	0,57	—	0,45
32 Tage . . .	0,852	0,62	—	0,42
34 Tage . . .	1,05	0,67	0,105	0,57
42 Tage . . .	1,26	0,94	—	0,14
54 Tage . . .	1,17	0,72	0,27	0,98
65 Tage . . .	0,92	0,79	0,15	0,36
76 Tage . . .	1,10	0,82	0,245	0,35
80 Tage . . .	0,97	0,705	—	0,46
85 Tage . . .	0,99	0,84	0,26	0,34
90 Tage . . .	0,97	0,805	—	0,275
102 Tage . . .	0,94	0,85	0,23	0,355
113 Tage . . .	0,84	0,59	0,166	0,42
124 Tage . . .	0,82	0,77	0,248	0,38
133 Tage . . .	0,94	0,81	0,335	0,42
Freilandpflanzen. Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC Beginn der Analysen: 6. 6. 56				
51 Tage . . .	0,92	0,522	0,46	1,58
61 Tage . . .	0,96	0,71	0,33	0,94
73 Tage . . .	0,86	0,53	0,56	1,52
82 Tage . . .	0,79	0,78	0,45	1,08
93 Tage . . .	0,64	0,55	0,46	1,24
105 Tage . . .	1,2	0,56	0,77	1,18
115 Tage . . .	0,62	0,52	0,69	1,14
126 Tage . . .	0,71	0,62	0,88	1,00
137 Tage . . .	1,07	0,72	0,99	1,15

Tabelle 9. *Vergleichsanalysen von Treibhaus- und Freiland-Blättern* (*Zea mays:* Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC)

	Substanz W E. bei λ_{342}	Substanz Bl E. bei λ_{337}	Substanz N E. bei λ_{355}	Substanz H E. bei λ_{350}
Ausgangsanalyse 25 Tage alt; 10. 5. 56 Treibhauspflanzen	0,75	0,57	0,083	0,44
1. Vergleichsanalyse 65 Tage alt Treibhauspflanzen	0,92	0,78	0,123	0,362
Freilandpflanzen	1,23	0,764	0,508	1,13
2. Vergleichsanalyse 85 Tage alt Treibhauspflanzen	1,05	0,85	0,263	0,345
Freilandpflanzen	1,13	0,78	0,96	1,72

Die zu Anfang Mai neu austreibenden Blätter hingegen (Ib und IIb) besitzen zunächst nur Spuren von Rutin. Sie sind bis Ende Mai voll ausgewachsen, haben sie dann auch die für das ältere Efeublatt typische dunkelgrüne Tönung angenommen, so beginnt (von Anfang bis Mitte Juli) ihr Rutinspiegel zu steigen. Der erreichte Höchstwert

liegt noch unter den Werten der alten Blätter und wird vermutlich im Laufe des Spätherbstes oder während des Winters erst langsam erreicht. Eine sichere Entscheidung läßt sich hier freilich nicht treffen, da die Möglichkeit einer witterungsbedingten Depression des Gesamt-Rutingehaltes während des ausgesprochen sonnenarmen Sommers 1956 nicht auszuschließen ist.

Befunde von AHLGRIMM (1955) sowie SPRECHER (1956) über das Verhalten des Rutins bei *Fagopyrumarten* während der Vegetationsperiode stehen zu unseren Ergebnissen in gewissem Gegensatz, da nach diesen Verfassern jüngere Blätter einen höheren Flavongehalt als alte, völlig ausgewachsene Blätter aufweisen, auch unabhängig davon, ob sie an einer relativ jungen oder alten Pflanze wuchsen. Allerdings steigt bei AHLGRIMM die Menge Rutin im Einzelblatt bis zu einem Maximum an, um dann wieder zu fallen.

Tabelle 10. *Jahreszeitlicher Verlauf der Stoffbildung in Triticum-Blättern* (*Freilandpflanzen:* Je 5 g Frischgewicht; 20 ml Rohextrakt; 0,1 ml auf PC. Beginn der Analysen: 15. 4. 56)

Alter der Pflanzen	Tricin E. bei λ_{345}	Substanz N_1 E. bei λ_{355}	Scopolin E. bei λ_{334}
51 Tage	0,949	0,615	0,166
61 Tage	1,020	0,547	0,175
73 Tage	0,96	0,606	0,255
82 Tage	0,97	0,438	0,322
93 Tage	0,985	0,612	0,378
105 Tage	0,96	0,55	0,388
115 Tage	0,85	0,348	0,314
126 Tage	0,822	0,372	0,295
137 Tage	0,837	0,135	0,304

Daß sich die aufgezeigten Gegensätzlichkeiten nicht aus der Unterschiedlichkeit der Versuchsobjekte, sondern eher aus der Wahl der Bezugsgröße, der Versuchsmethodik als solcher usw. ergeben, schließen wir aus den Untersuchungen von NÖLL (1955), die ebenfalls wie AHLGRIMM und SPRECHER an *Fagopyrum* nun wiederum ein Ansteigen des Rutin- sowie Gesamt-Flavonol-Gehaltes beobachtete.

Der Rutin-Gehalt von Schattenblättern, gleich ob vorjährig oder diesjährig, ist nach unseren Ergebnissen stets geringer als der der Sonnenblätter. Dies steht in Übereinstimmung mit den Befunden von NICK (1953) an *Polygonum bistorta* und denen von NÖLL (1955) an *Fagopyrum esculentum* und *F. tartaricum*.

Der Gehalt an Scopolin steigt bei den überwinterten Blättern während der Sommer- und Herbstmonate intensiver an als der Rutin-Gehalt. Für die neuausgetriebenen Blätter liegt der Hauptanstieg des Scopolins im Monat Juli. Der Scopolingehalt der alten Blätter wird hier ebenfalls nicht erreicht.

Die Chlorogensäurekonzentration der vorjährigen Blätter ist während der Sommermonate als relativ konstant anzusehen. Schatten- und Sonnenblätter entsprechen sich weitgehend. Bei dem raschen Anstieg, auch hier Anfang bis Mitte Juli, erreichen die jungen Blätter das Chlorogensäureniveau der vorjährigen.

Der Kaffeesäurespiegel ist über die Vegetationsperiode hin relativ starken Schwankungen unterworfen. Im April ist für die überwinterten Blätter eine beträchtliche Senkung des Kaffeesäuregehaltes zu verzeichnen. Bemerkenswerterweise liegt der Spiegel der vorjährigen Schattenblätter wesentlich höher als derjenige der gleichaltrigen Sonnenblätter.

Die bei *Hedera helix* beobachtete auffällige Steigerung der Stoffproduktion bei einem Treibhaus-Freilandwechsel ist bei *Helianthus* kaum und bei *Zea mays* nur für die Flavonoide zu verzeichnen. Zwar wuchsen alle 3 Objekte unter dem gleichen Einfluß der „lichtfilternden" Wirkung des Glasdaches, die Sonnenblumen und der Mais jedoch unter günstigeren Lichtverhältnissen als der Efeustrauch, der an der beschatteten Nordwand des Treibhauses hochklimmte.

Für *Helianthus* liegt sowohl bei Treibhaus- als bei Freilandpflanzen die hauptsächliche Zunahme an Flavonoiden bereits vor dem Blühbeginn, wohingegen Kaffeesäure, Chlorogensäure und Scopolin noch bis zur Fruchtreife hin zunehmen. Bei *Zea mays* setzt der sprunghafte Anstieg in der Bildung der Flavone und Zimtsäurederivate bereits ein, ehe die Pflanzen 25 Tage alt sind. Bis zu einem Alter von 50 Tagen ist noch eine weitere Zunahme aller Komponenten zu verzeichnen. Von da ab bleibt dann aber der Gehalt — von einigen Schwankungen abgesehen — weitgehend konstant.

Erwähnt sei hier noch ein sicher nicht zufälliger Antagonismus zwischen dem Hauptflavonoid H und dem mit Bl bezeichneten Zimtsäurederivat.

Untersucht man 50—150 Tage alte Weizenpflanzen, so findet man in diesem Zeitraum einen ziemlich konstanten Stoffspiegel für Tricin, Nebenflavonoid N_1 und Scopolin. Hieraus ergeben sich keine Aufschlüsse über den jahreszeitlichen Modus der Stoffproduktion.

2. *Der tagesperiodische Verlauf der Stoffbildung*

Neben der Erfassung einer Bildung von Sekundärprodukten in Abhängigkeit vom Alter und Entwicklungsstadium der Pflanzen schien es ferner von Interesse, den tagesperiodischen Verlauf der Produktion von Sekundärstoffen zu untersuchen.

Tagesperiodische Schwankungen sind bereits hinsichtlich des Alkaloid-, Terpenoid- und Flavonol-Gehaltes von Laubblättern bekannt (MOTHES 1955, ESDORN 1954 und KALITZKI 1954). An *Fagopyrum esculentum* und *F. tartaricum* bestimmten ESDORN und NÖLL (1955) photometrisch (mit Hilfe des Elektrophotometers Elko II) den Gesamtflavonol- und Rutin-Gehalt am Morgen, Mittag und Abend. Während des Tages stieg die Konzentration beider Stoffe stetig an (20 Uhr höchster Wert), um über Nacht wieder auf etwa den gleichen Ausgangswert abzusinken (8 Uhr tiefster Wert). Sie brachten diese Schwankungen in Abhängigkeit zur Belichtung der Pflanzen, somit also im Zusammenhang zur Photosynthese.

Wir prüften diese Befunde an unseren Versuchsobjekten und erweiterten sie dahingehend, daß nicht nur Pflanzen, die dem normalen Licht-

Dunkel-Rhythmus folgen konnten, sondern auch völlig verdunkelte Pflanzen zu den zu vergleichenden Analysen herangezogen wurden.

An rund 100 Tage alten *Helianthus*- und *Zea mays*-Pflanzen wurden hierzu Blätter bzw. bei *Triticum vulgare* ganze Pflanzen des gleichen Entwicklungsstadiums unter genauer Beachtung ihres Lichtfeldes markiert, in 4stündlicher Folge für die Analysen entnommen und unmittelbar nach der Ernte aufgearbeitet. 5 g Frischgewicht lagen dem auf 20 ml konzentrierten methanolischen Rohextrakt zugrunde. Davon

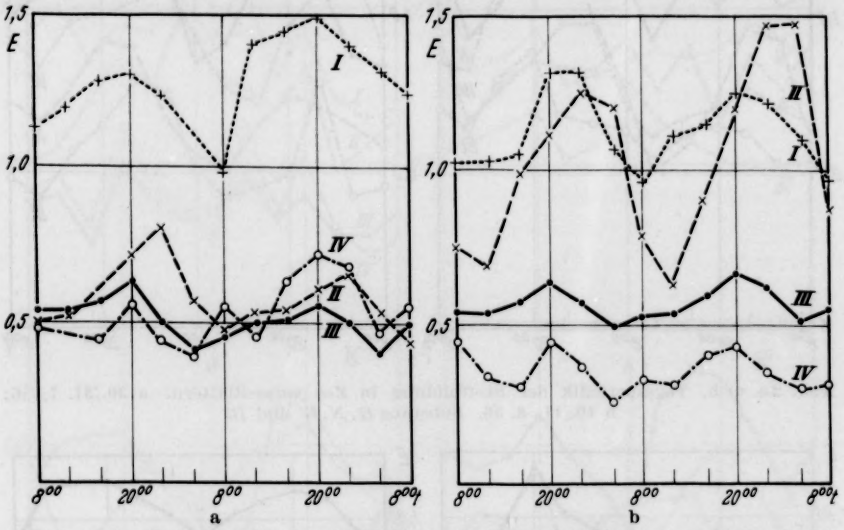


Abb. 1 a u. b. Tagesperiodik der Stoffbildung in *Helianthus*-Blättern. a 30./31. 7. 56; b 10./11. 8. 56. *I* Chlorogensäure, *II* Kaffeesäure, *III* Hauptflavonoid, *IV* Scopolin

wurden auf die Chromatogramme in mehreren Spots je 0,1 ml aufgetragen. Die in den Abbildungen wiedergegebenen Extinktionswerte stellen Mittelwerte aus je 3—5 Einzelmessungen dar.

Die völlige Verdunkelung der Pflanzen für die zweite Versuchsserie ließ sich im Freiland an den Pflanzen selbst schwierig durchführen. Wir brachten deshalb die von den Wurzeln befreiten beblätterten Sprosse in Wasser in einen Dunkelraum. Entsprechend behandelte und in einem hellen Südraum gehaltene Pflanzen dienten als Kontrolle. Die Pflanzen wurden 36 Std vor Versuchsbeginn verdunkelt, und es wurde in 4stündlicher Folge von ihnen das Analysenmaterial entnommen. Dabei traten während der $3^1/_2$tägigen Versuchsdauer keinerlei Welkeerscheinungen oder sonstige Schädigungen auf.

Was läßt sich nun aus den Kurven (Abb. 1—3) der ersten Versuchsserie „normaler Tag-Nacht-Rhythmus", die wir zur Kontrolle an 2×2 Tagen (30./31. 7. 56 und 10./11. 8. 56) aufnahmen, herauslesen?

Eine tagesperiodische Schwankung ist bei *Helianthus*, *Zea mays* und *Triticum* für alle erfaßten Komponenten vorhanden. Die Abendwerte

liegen jeweils höher als die Morgenwerte. Die Flavonoide im speziellen erreichen in Übereinstimmung mit ESDORN und NÖLL (1955) ihren Höchstwert mit beginnender Dämmerung gegen 20 Uhr, desgleichen

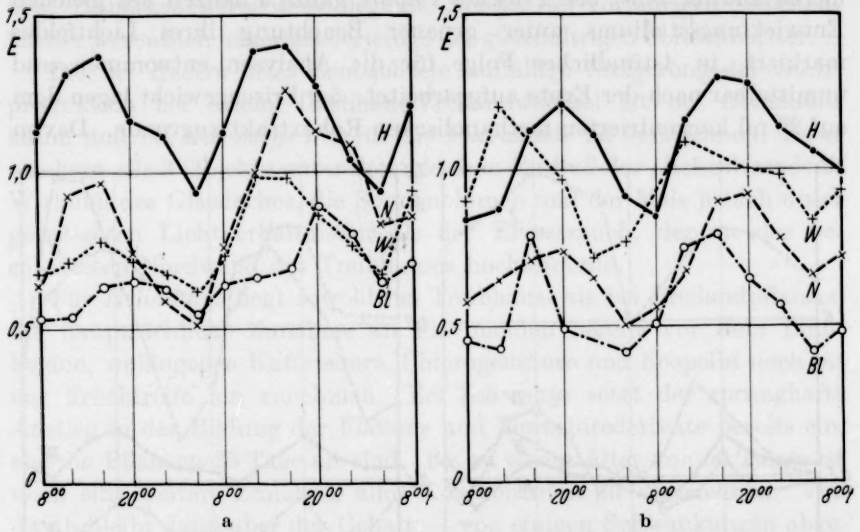


Abb. 2a u. b. Tagesperiodik der Stoffbildung in *Zea mays*-Blättern. a 30./31. 7. 56; b 10./11. 8. 56. Substanz *H*, *N*, *W* und *Bl*

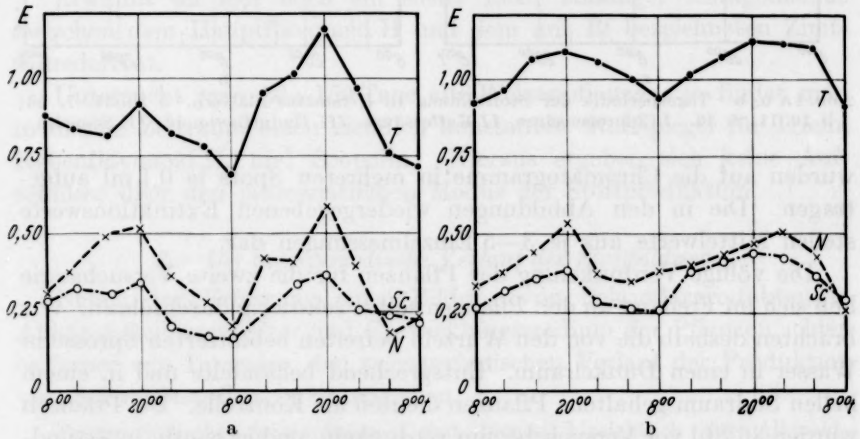


Abb. 3a u. b. Tagesperiodik der Stoffbildung in *Triticum*-Blättern. a 30./31. 7. 56; b 10./11.8. 56. *T* Tricin, *N* Nebenflavonoid, *Sc* Scopolin

das Scopolin in *Helianthus*- und *Triticum*-Blättern. Während der Nacht verringert sich der Gehalt an diesen Substanzen, bis mit Anbruch des Tages wieder allmählich die steigende Tendenz einsetzt. Bei den Zimtsäurederivaten kann sich das Maximum bis in die Nacht hinein verschieben, so bei Chlorogensäure bis gegen 24 Uhr, bei Kaffeesäure noch darüber hinaus bis gegen 4 Uhr. Der rückläufige Vorgang hält hier aber

auch bis in die frühen Mittagstunden hinein an. Die Zimtsäurederivate bei *Zea mays* hingegen zeigen eher eine Verschiebung ihres Maximums in den Tag hinein. Substanz W erreicht ihren höchsten Gehalt bereits gegen 12 Uhr, Substanz Bl gegen 16—20 Uhr. Die steigende Tendenz setzt

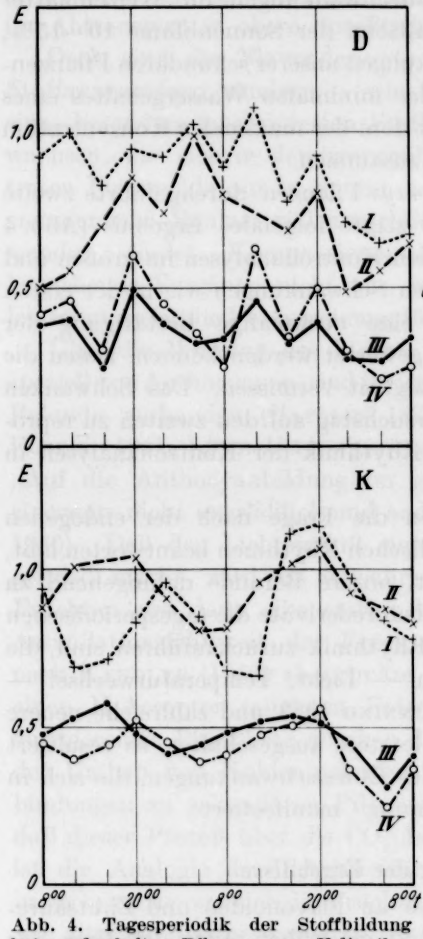


Abb. 4. Tagesperiodik der Stoffbildung bei verdunkelten Pflanzen von *Helianthus annuus* (*D*). Belichtete Kontrollserie (*K*). *I—IV* entsprechend Abb. 1

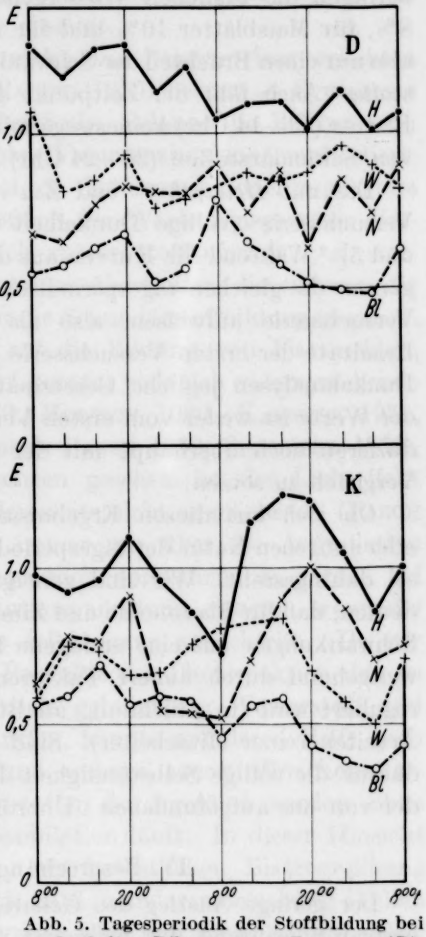


Abb. 5. Tagesperiodik der Stoffbildung bei verdunkelten Pflanzen von *Zea mays* (*D*). Belichtete Kontrollserie (*K*). *H, N, W, Bl* entsprechend Abb. 2

bei ihnen gegen 4 Uhr ein. Abweichungen der Maximal- bzw. Minimalbeträge der einzelnen Komponenten zwischen dem 1. und 2. Versuchstag sind wohl auf die günstigeren Witterungsbedingungen des 31. 7. 56 zurückzuführen (strahlender Sonnenschein; Vortag wolkig bis heiter).

Die durchschnittlichen tagesperiodischen Schwankungen im Gehalt der Kaffeesäure bei *Helianthus*-Blättern seien der Anschaulichkeit halber in absoluten Mengen angegeben: Minimum = 0,12 mg/g Frischgewicht, Maximum = 0,26 mg/g Frischgewicht.

Wenn auch in unseren Untersuchungen als Bezugsgröße das Frischgewicht verwendet wurde, so dürfte doch die tagesperiodische Zu- und Abnahme der erfaßten Sekundärstoffe nicht auf kurzfristigen reversiblen Schwankungen des Wassergehaltes beruhen. Nach WALTER (1931) betragen die täglichen Wassergehaltschwankungen für Weizenblätter 8%, für Maisblätter 10% und für Blätter der Sonnenblume 10—15%, also nur einen Bruchteil der Schwankungen unserer sekundären Pflanzenstoffe. Auch fällt der Zeitpunkt des minimalen Wassergehaltes eines Blattes (12—14 Uhr) keineswegs mit dem der maximalen Konzentration von Sekundärstoffen (20—24 Uhr) zusammen.

Die mit *Helianthus-* und *Zea mays*-Pflanzen durchgeführte zweite Versuchsserie „völlige Dunkelheit" zeigte folgendes Ergebnis (Abb. 4 und 5): Während die Kurven aus den Kontrollanalysen im großen und ganzen die gleichen tagesperiodischen Schwankungen wie in der ersten Versuchsserie aufweisen, also als eine nochmalige Bestätigung der Resultate der ersten Versuchsserie gewertet werden können, lassen die Dunkelanalysen jegliche Gesetzmäßigkeit vermissen. Das Schwanken der Werte ist weder vom ersten Versuchstag auf den zweiten zu reproduzieren noch überhaupt mit der Rhythmik der Kontrollanalysen in Vergleich zu setzen.

Ob sich aus diesen Ergebnissen die Frage nach der endogenen oder exogenen Natur der tagesperiodischen Rhythmen beantworten läßt, sei dahingestellt. Wir sind geneigt, unsere Befunde dahingehend zu deuten, daß für Flavonoide und Zimtsäurederivate die tagesperiodischen Schwankungen auf eine endogene Rhythmik zurückzuführen sind, die weitgehend durch äußere Faktoren — Licht, Temperaturwechsel — reguliert wird (in Anlehnung an BÜNNING 1953 und zahlreiche neuere Arbeiten seiner Mitarbeiter). Sind letztere ausgeschaltet, so resultiert daraus die völlige Selbständigkeit der Einzelschwankungen, die sich in der von uns aufgefundenen „Unordnung" manifestiert.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Der geringe Anstieg des Gehaltes an Flavonoiden und Zimtsäurederivaten während der Keimung und im frühen Jugendstadium der Pflanzen einerseits und die rasche Stoffneubildung dieser Substanzen in den ausgewachsenen und voll assimilationsfähigen Blättern andererseits lassen vermuten, daß die Synthese dieser sekundären Stoffe nur in größerem Umfang vor sich geht, wenn sich der pflanzliche Organismus einen „luxurierenden" Stoffwechsel erlauben kann. Orte großer Stoffansammlungen und -umsätze müssen die notwendigen Bausteine zur Verfügung stellen und dienen damit als Reservoir für sekundäre Pflanzenstoffe (nach FREY-WYSSLING und BLANK 1943, PAECH und EBERHARDT 1952, EBERHARDT 1954, TREIBS 1953). SPRECHER (1956) konnte in Ringelungsversuchen zeigen, daß die Stauung von Assimilaten bei

Ruta graveolens eine Anthocyanbildung zur Folge hat. Der an die Ringelung grenzende Rindenteil, in dem sich die Assimilate ansammeln, besitzt dann eine anthocyanhaltige Epidermis *oberhalb* der Ringelung, wenn sich dort assimilierende Blätter befinden, *unterhalb* derselben, wenn im Frühjahr die Mobilisierung von Kohlenhydraten in der Wurzel und ihr Abtransport in obere Sproßteile einsetzt.

Doch sind die Flavonderivate nicht nur Zeugen einer erhöhten Stoff*ansammlung*, sondern — wie PAECH (1950) betont — Symptome eines besonders intensivierten Stoff*wechsels*. Solange die Blätter noch wachsen, was sich in der irreversiblen Volumenzunahme manifestiert, treten Flavonoide nur in Spuren auf, da das erzeugte oder zugeleitete energiereiche Baumaterial ausschließlich für Wachstumsprozesse Verwendung findet. Kompensieren sich später stoffliefernde und -verbrauchende Vorgänge nicht nur, sondern übertreffen die ersteren die letzteren, so ist die Voraussetzung für die Sekundärstoffbildung gegeben.

Über die Wirkung des Lichtes auf die Bildung von Flavonoiden, speziell von Anthocyanen, sind in der Literatur viele sich widersprechende Befunde vorhanden (BATALIN 1879, MOLISCH 1928, KARSTEN 1939, FLOREN 1941, LÜKE 1944, zitiert nach PAECH 1950, SPRECHER 1956). „Auf die Anthocyanbildung im ganzen gesehen ist der Lichteffekt einerseits nicht unerläßlich und andererseits nicht ausreichend" (PAECH 1950). Daß der Lichteinfluß sich immer nur über die Assimilation geltend macht, wird als unwahrscheinlich angesehen, da gerade bei Früchten erst dann eine starke Anthocyanrötung einsetzt, wenn die Assimilationsfähigkeit der Früchte selbst ganz zurücktritt. Da wir nach KANDLER (1950) als primäre Produkte der Photoreaktion den an einen H-Acceptor mittleren Potentials gebundenen Wasserstoff und energiereiche Phosphate ansehen dürfen, könnte mit deren Hilfe auch der Umbau von Kohlenhydraten und anderen sauerstoffreichen Verbindungen zu sekundären Pflanzenstoffen durchgeführt werden, ohne daß dieser Prozeß über die CO_2-Assimilation läuft. In dieser Hinsicht ist die Analogie der Fruchtreifung zur herbstlichen Blattvergilbung unverkennbar, wie sich die Früchte ja auch in anderer Beziehung ähnlich wie alternde Blätter verhalten (SEYBOLD 1943 und 1954, REZNIK 1955). Der Einfluß des Lichtes machte sich bei unseren Versuchen auf die Flavonoid-Synthese und die der Zimtsäurederivate sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Hinsicht bemerkbar. Grünschattenblätter eines Efeustrauches übertrafen die entsprechenden Blätter des Sonnenlichtfeldes um etwa das Dreifache ihres Kaffeesäuregehaltes. Da sich der Chlorogensäure- und Rutinspiegel beider Typen nicht nennenswert unterschied, können wir die Überproduktion der Schattenblätter an Kaffeesäure vielleicht so deuten, daß unter den Bedingungen des Grünschattenlichtfeldes ein spezifisches Enzym seine optimale Wirksamkeit entfaltet; oder es könnte auch sein, daß der Schritt Kaffeesäure → inter-

mediäres Chalcon (C_6-Vorstufe des A-Rings + Kaffeesäure kondensiert) lichtabhängig wäre.

Von allen übrigen Außenfaktoren abgesehen ist ein quantitativer Unterschied in der Produktion von Flavonoiden und Zimtsäurederivaten bei unseren Versuchen auf die „lichtfilternde" Wirkung eines Glasdaches (Treibhaus) zurückzuführen. Es scheint hier die Deutung naheliegend, daß der Ultraviolett-Anteil der Sonnenstrahlung bei der Bildung der im UV stark absorbierenden Flavonoide und Zimtsäurederivate besonders wirksam ist. Wie in Messungen nachgeprüft werden konnte, filtert die Glasabdeckung unserer Treibhäuser gerade diese Bezirke heraus. Die „UV-Filtertheorie", wie sie von SHIBATA und anderen Autoren vertreten wird, weist in dieselbe Richtung. SPRECHERS Befunde zeigen, daß normales Fensterglas im Gegensatz zu der Hemmung der Flavonole und Flavone eine Anthocyanbildung nicht hindert, Rotglas jedoch eine solche stark hemmt. Nach neuesten Untersuchungen von MOHR (1957) an Keimlingen von *Sinapis alba* L. wird die Anthocyanbildung bei Infrarot- und Rotlichtbestrahlung einerseits durch eine sog. Niederenergiereaktion, andererseits durch eine Hochenergiereaktion maßgebend beeinflußt. SIEGELMAN und HENDRICKS (1957) nehmen dazu an, daß die den Hochenergiereaktionen zugrunde liegenden Pigmente Cu-Flavoproteine sind, wobei die Blauabsorption wohl auf den Flavinanteil, die Absorption im langwelligen Bereich des sichtbaren Spektrums auf den Schwermetallanteil zurückgeht. Auch Beobachtungen von EDMONDSEN und THIMANN (1950) geben Hinweise für eine Beteiligung von Kupfer an der Anthocyanbildung.

Die Abhängigkeit der Stoffbildung von der Tagesperiodik geht für Flavonoide und verwandte Zimtsäurederivate aus unseren Untersuchungen eindeutig hervor. ESDORN und NÖLL (1955) erhielten bei *Fagopyrum* für Rutin und Gesamtflavonol entsprechende Ergebnisse. Aus diesem Resultat folgern wir, daß auch sekundäre Pflanzenstoffe steten Umwandlungen unterworfen sind. SPRECHER (1956) schließt aus dem Absinken des Rutin-Gehaltes bei etiolierten Rautenkeimlingen von einem bestimmten Entwicklungsstadium ab trotz weiterer Zunahme ihres Frisch- und Trockengewichts auf eine „Wiedereinbeziehung des Glycosides in den Stoffwechsel". Ein entsprechendes Verhalten sollen — nach Angaben von SPRECHER — auch NAGHSKI (1947) bereits für *Forsythia* und KING (1949) für *Sambucus* nachgewiesen haben. Wie weit nach den genannten Verfassern aber in so allgemeiner Form von einem „Wiedereinbeziehen in den Stoffwechsel" gesprochen werden darf, ist fraglich. In Anbetracht unserer Ergebnisse aus Fütterungsversuchen mit inaktiven und radiomarkierten Flavonoid- bzw. Zimtsäurevorstufen, die wir in Kürze mitteilen werden[1], scheint zumindest ein direkter

[1] Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. III. Planta 1959, im Druck.

Anschluß an den Grundstoffwechsel ausgeschlossen zu sein. Wir wollen die erfaßten tagesperiodischen Schwankungen im Flavonoidgehalt — wenn sie auch synchron zur Photosynthese und zum periodischen Verlauf der Atmungsgröße (Brown, Freeland, Ralph 1955) sich vollziehen — nur als *begrenzten* Stoffauf- und -abbau werten. Vielleicht gehen Flavonoide nur in die ihnen entsprechenden Leucoverbindungen oder in nahverwandte Catechine über und entziehen sich damit unseren speziellen Methoden der Erfassung.

Dennoch ergibt sich aus diesen Resultaten die Notwendigkeit, die bisher recht *statische* Betrachtungsweise der sekundären Abläufe durch eine *dynamische* zu ersetzen.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

1. Erst im ausgewachsenen Blatt werden sekundäre Stoffe in größeren Mengen gebildet. Nach einer relativ kurzen Periode des Anstieges bleibt die erreichte Stoffkonzentration mehr oder minder konstant. Sonnenblumen- und Maisblätter vermindern ihren Flavonoidgehalt bei Eintritt der Blühperiode.

2. Eine Abhängigkeit der Stoffbildung von der Tagesperiodik ist bei *Helianthus*, *Zea* und *Triticum* nachweisbar.

Flavonoidkomponenten erreichen das Maximum der Stoffkonzentration gegen 20 Uhr mit Beginn der Dämmerung. Über die Nachtstunden erniedrigen sich die Werte wieder bis zu einem Minimum gegen 4 Uhr morgens. Der Gehalt an Chlorogensäure und Kaffeesäure steigt bis in die Nacht hinein an und sinkt bis 12 Uhr mittags auf den Anfangswert ab. Die Zimtsäurederivate W und Bl aus Blättern von *Zea mays* weisen eine maximale Konzentration zwischen 12 und 16 Uhr, eine minimale in den frühen Morgenstunden (4 Uhr) auf.

3. Dunkelversuche lassen auf eine endogene, von Außenfaktoren regulierte Periodik der Bildung von sekundären Stoffen schließen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Reznik, der die Untersuchungen angeregt und durch vielseitige Ratschläge stets gefördert hat. Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. A. Seybold für sein wohlwollendes Entgegenkommen, das mir die Durchführung dieser Arbeit an seinem Institut ermöglichte, zu Dank verpflichtet. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Bereitstellung der Geräte und Materialien gedankt.

Literatur

Ahlgrimm, E. D.: Über den Gesamtflavonol- sowie den Rutingehalt verschieden alter Blätter bei *Fagopyrumarten*. Naturwiss. **42**, 465—466 (1955). — Brown, S. A. jr., R. C. Freeland and C. L. Ralph: Persistent rhythmus of O_2-consumption in potatoes, carrots and the seaweed Fucus. Plant Physiol. **30**, 280—292 (1950). — Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie, 3. Aufl. Berlin 1953. — Couch, J. F., J. Naghaski and Ch. F. Krewson: Buckwheat as a source of Rutin. Science **103**, 197—198 (1946). — Cramer, F.: Papierchromatographie, 2. Aufl. Weinheim 1953. — Eberhardt, F.: Über die Beziehung zwischen

Atmung und Anthocyansynthese. Planta (Berl.) **43**, 253—287 (1954). — Edmondsen, Y. H., and K. V. Thimann: The biogenesis of anthocyans. II. Evidence for the mediation of copper in anthocyan synthesis. Arch. Biochem. **25**, 79—90 (1950). — Esdorn, I.: Neuere Untersuchungen über die Biogenese der ätherischen Öle. Dtsch. Apoth.-Ztg **94**, 95—97 (1954). — Esdorn, I., u. G. Nöll: Untersuchungen über tagesperiodische Schwankungen im Gehalt an Flavonolen bei *Fagopyrum*-Arten. Planta (Berl.) **45**, 376—378 (1955). — Frey-Wyssling, A., u. F. Blank: Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyans in Keimlingen von *Brassica oleracea L. var. capitata* L. *f. rubra* L. Ber. schweiz. bot. Ges. A **53**, 550—578 (1943). — Kalitzki, M.: Untersuchungen über die Veränderung in der Zusammensetzung des ätherischen Öles von *Mentha piperita* und *Anethum graveolens* mit besonderer Berücksichtigung des Welkevorganges. Pharmazie **9**, 61—82, 155—166 (1954). — Kandler, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. Z. Naturforsch. **5b**, 423—437 (1950). — King, A., C. Burton and A. E. Schwarting: The occurrence of Rutin in *Sambucus canadensis*. J. Amer. pharm. Ass., sci. Ed. **38**, 531—532 (1949). — Linskens, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik, Berlin 1955. — Mohr, H.: Der Einfluß monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypocotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **49**, 389—405 (1957). — Mothes, K.: Neuere Untersuchungen über die Biologie der Alkaloide. Vortr. Dtsch. Pharmaz. Ges., Hamburg 1955. Zit. nach I. Esdorn u. G. Nöll 1955. — Naghski, J., W. L. Poster and J. F. Couch: Isolation of Rutin from two varieties of *Forsythia*. J. Amer. chem. Soc. **69**, 572—573 (1947). — Nick, E.: Beiträge zur Physiologie der Gerbstoffe und Flavonfarbstoffe bei *Polygonum bistorta* L. Pharmazie **8**, 940—950 (1953). — Nöll, G.: Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Faktoren auf den Flavonolgehalt von *Fagopyrum esculentum* und *Fagopyrum tartaricum*. Pharmazie **10/11**, 609—615 (1955). — Paech, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin 1950. — Paech, K., u. F. Eberhardt: Untersuchungen zur Biosynthese der Anthocyane. Z. Naturforsch. **7b**, 664—670 (1952). — Paech, K., and M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Ed. I—IV. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Paris, M. R.: Ann. pharm. franç. **7**, 21 (1949). Zit. nach G. Nöll 1955. — Reznik, H.: Über das Anthocyan des Herbstlaubes. Naturwiss. **42**, 180 (1955). — Seybold, A.: Zur Kenntnis der herbstlichen Laubblattfärbung. Bot. Archiv **44**, 551—568 (1943). — Untersuchungen über den Farbwechsel von Blumenblättern, Früchten und Samenschalen. S.-B. Heidelberg. Acad. Wiss. math.-nat. Kl. **2**, 31—124 (1953/54). — Siegelman, H. W., and S. B. Hendricks: Photocontrol of anthocyan formation in turnip and red cabbage seedlings. Plant Physiol. (1957a, im Druck). Zit. nach H. Mohr 1957. — Sprecher, E.: Beiträge zur Frage der Biogenese sekundärer Pflanzenstoffe bei der Weinraute (*Ruta graveolens L.*). Planta (Berl.) **47**, 323—358 (1956). — Treibs, W.: Zur Biochemie und Biogenese der Inhaltsstoffe ätherischer Öle. S.-B. dtsch. Acad. Wiss., Kl. Math. u. allg. Naturwiss. Nr. 6, 1—18 (1953). — Walter, H.: Die Hydratur der Pflanze. Jena: Gustav Fischer 1931.

Dr. Rosmarie Urban,
Gelsenkirchen-Buer (Westf.), Gladbeckstr. 70

Planta, Bd. 52, S. 583—586 (1959)

Kurze Mitteilung

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

TAGESPERIODISCHE SCHWANKUNGEN DER FÄHIGKEIT ZUR CHLOROPHYLLBILDUNG

Von

K. MITRAKOS*

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Dezember 1958)

Wiederholt sind periodische, bevorzugt tagesperiodische Schwankungen der Stoffwechselleistungsfähigkeiten (speziell ein Alternieren synthetischer und dissimilatorischer Kapazitäten) an Pflanzen gefunden worden, die sich auch unter konstanten Bedingungen fortsetzen [Zusammenfassungen vgl. BÜNNING (1), (2)]. Aus solchen Schwankungen der *Leistungsfähigkeit* werden auch diurnale Änderungen des Chlorophyllgehalts verständlich (vgl. MITRAKOS, BÜNNING und EBERHARDT[1] und dort zitierte Literatur). Die Vermutung, daß tagesperiodische Schwankungen des Chlorophyllgehalts sich aus tagesperiodischen Schwankungen von synthetischen Leistungsfähigkeiten erklären können, wird durch die Arbeiten von CLAUSS, CLAUSS und RAU, CLAUSS und SCHWEMMLE nahegelegt: Kurz dauernde Lichtperioden, die eine längere Zeit dauernde Dunkelperiode unterbrechen, haben je nach dem Zeitpunkt ihres Einwirkens einen unterschiedlich starken Einfluß auf die Chlorophyllbildung. Mit einer anderen Versuchsanordnung konnte ich diese Schlußfolgerung bestätigen.

Als Material dienten Keimlinge von *Perilla ocymoides*, zur Kultur Schalen mit Erde. In jeder Schale wurden etwa 220 Pflanzen in 8 parallelen Reihen angesetzt. Sie wurden in den ersten 7 Tagen unter Standardbedingungen von Temperatur und Luftfeuchtigkeit in einer Klimakammer gehalten. Während dieser Zeit war die Lichtintensität schwach (zwischen 3 und 7 Lux, jedoch bei jedem Einzelversuch konstant), das Verhältnis Licht zu Dunkelheit 12:12 Std (Licht von 8—20 Uhr).

Zwei Versuchsreihen wurden wie folgt durchgeführt (vgl. auch Abb. 1). 1. Reihe: Die Pflanzen blieben auch nach dem 7. Tag unter den genannten Bedingungen. 2. Reihe: Die Pflanzen kamen nach dem 7. Tag in Dauerdunkel (bei unveränderter Temperatur und Luftfeuchtig-

* Botanisches Institut Thessaloniki (Griechenland), z. Z. Tübingen.

[1] Diese früheren Versuche bezogen sich ebenso wie die unten mitgeteilten auf Keimpflanzen, in denen der Prozeß der Chlorophyllsynthese noch intensiv abläuft. Insofern ist unsere Formulierung, daß die Ergebnisse die Angaben WENDELS bestätigen, nicht richtig; denn seine Angaben beziehen sich auf ausgewachsene Blätter.

keit). An beiden Gruppen wurde nach jenem 7. Tag die *zusätzliche* Chlorophyllbildung geprüft, und zwar indem die Pflanzen zu verschiedenen Zeiten (bei Reihe 1 aus Licht bzw. Dunkelheit, bei Reihe 2 aus dem Dauerdunkel) entnommen und für 4, 5 oder 6 Std in eine andere Klimakammer mit größerer Lichtintensität als der ursprünglichen übertragen wurden (830—3000 Lux, jedoch bei jedem Einzelversuch konstant). Jeweils zu Beginn und zu Ende dieser 4—6stündigen Periode höherer Lichtintensität wurde bei je 50% (d. h. etwa 100) der Pflanzen jeder Schale die Chlorophyllbildung bestimmt. Als Maß für die Chloro-

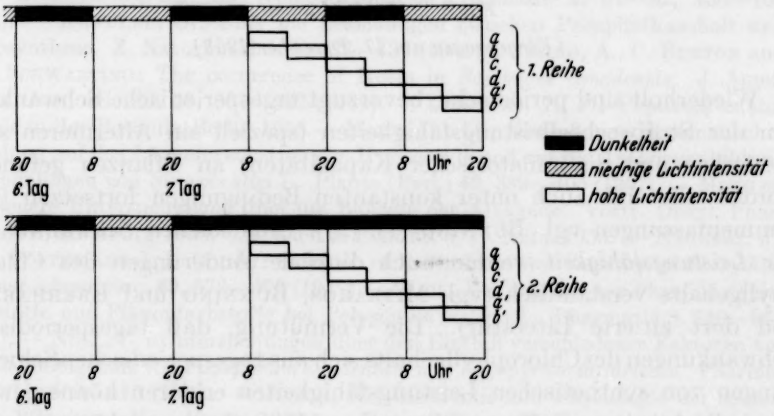


Abb. 1. Schematische Darstellung der Beleuchtungsprogramme für die Versuchsreihen 1 und 2

phyllbildung diente die Gewichtsdifferenz je von Chlorophyll a und b zwischen diesen beiden Analysen (berechnet in μg nach Comar und Zscheile).

Das Programm (der 2. Reihe) für die genannten unterschiedlichen Zeiten der Übertragung in die höhere Lichtintensität sah bei 6stündiger Einwirkung dieses stärkeren Lichtes folgendermaßen aus:

a und a′ 8—14 Uhr (d. h. 12—18 bzw. 36—42 Std nach Beginn des Dauerdunkels).

b und b′ 14—20 Uhr (d. h. 18—24 bzw. 42—48 Std nach Beginn des Dauerdunkels).

c 20—2 Uhr (d. h. 24—30 Std nach Beginn des Dauerdunkels).

d 2—8 Uhr (d. h. 30—36 Std nach Beginn des Dauerdunkels).

Bei nur 4 bzw. 5 Std langer Einwirkung der höheren Lichtintensität fielen diese zusätzlichen Lichtperioden innerhalb der gleichen, entsprechend verkürzten Phasen, die oben unter a—d angegeben sind.

Mit anderen Worten: Es wurde allemal geprüft, wie die Fähigkeit zur Chlorophyllbildung in der 1. und 2. Hälfte der physiologischen Phase war, die vor dem Dauerdunkel in Licht fiel, und entsprechend

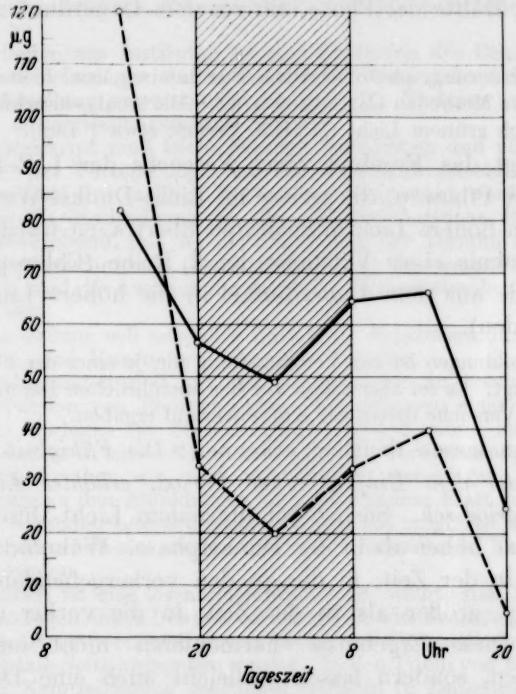


Abb. 2. Bildung von Chorophyll a und b unter dem Einfluß einer 6 Std langen Periode erhöhter Lichtintensität (830 Lux). Die Pflanzen waren, abgesehen von dieser Periode, bis zum Versuchsende dem Wechsel von schwachem Licht (3 Lux) und Dunkelheit ausgesetzt (Temperatur 21± 1°; Luftfeuchtigkeit 85 %, während des Zusatzlichtes 55 ± 5 %). Abszisse: Tageszeit, zu der die Chlorophyllbestimmung erfolgte (d. h. Ende der Periode erhöhter Lichtintensität). Ordinate: Zusätzliche Chlorophyllbildung (µg/100 Pflanzen). Schraffiert: Dunkelzeiten (d. h. die Pflanzen kamen aus der Dunkelperiode in die erhöhte Lichtintensität, im anderen Fall aus der Periode niedriger Lichtintensität in die erhöhte Lichtintensität). ——— Chlorophyll a; — — — Chlorophyll b

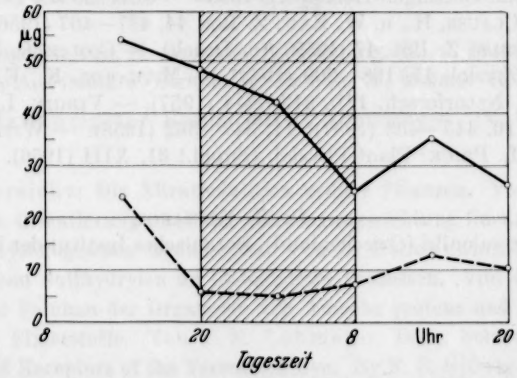


Abb. 3. Wie Abb. 1, jedoch bei Pflanzen, die nach dem 7. Tag in Dauerdunkel kamen, welches zu verschiedenen Zeiten von einer 5 Std langen Periode erhöhter Lichtintensität (2000 Lux) unterbrochen war (Temperatur 21°, Luftfeuchtigkeit 85 %). Schraffiert: Tageszeitliche Lage der Dunkelperioden vor der Übertragung in Dauerdunkel. ——— Chlorophyll a; — — — Chlorophyll b

in der 1. und 2. Hälfte der Phase, die vor dem Dauerdunkel in Dunkelheit fiel.

Für die Zerkleinerung, photometrische Bestimmung usw. hielten wir uns an früher beschriebene Methoden (Mitrakos u. a.). Alle Analysen erfolgten in einem Raum mit schwach grünem Licht (HNE/3, Osram, etwa 1 Lux).

Abb. 2 bringt das Ergebnis eines Versuchs der 1. Reihe (Chlorophyllbildung bei Pflanzen, die weiter im Licht-Dunkel-Wechsel stehen und von dort in höhere Lichtintensitäten übertragen wurden). Abb. 3 bringt das Ergebnis eines Versuchs der 2. Reihe (Chlorophyllbildung bei Pflanzen, die aus dem Dauerdunkel in die höhere Lichtintensität übertragen wurden).

In beiden Abbildungen ist zur Vereinfachung nur je einer der bisherigen Versuche berücksichtigt. Es sei aber schon vor der ausführlichen Darstellung betont, daß alle weiteren Versuche denselben Kurvenverlauf ergaben.

Beide Reihen lassen deutlich erkennen: *Die Fähigkeit zur Chlorophyllbildung unter dem Einfluß einer Periode erhöhter Lichtintensität schwankt tagesperiodisch.* Sie ist bei diurnalem Licht-Dunkel-Wechsel in der Lichtphase höher als in der Dunkelphase. Während des Dauerdunkels ist sie in der Zeit, in die an den vorhergehenden Tagen die Lichtperiode fiel, größer als in der Zeit, in die vorher die Dunkelperiode fiel. Diese Ergebnisse harmonieren nicht nur mit den eingangs zitierten, sondern lassen vielleicht auch eine Deutung von Resultaten zu, die Withrow und Virgin mitgeteilt haben: 6 Std nach einer kurzen Belichtung mit weißem oder rotem Licht zeigt sich ein Maximum der Chlorophyllsynthese.

Literatur

Bünning, E.: (1) Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 71—90 (1956). — (2) Die physiologische Uhr. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1958. — Clauss, H.: Z. Bot. **42**, 215 bis 245 (1954). — Clauss, H., u. W. Rau: Z. Bot. **44**, 437—467 (1956). — Clauss, H., u. B. Schwemmle: Z. Bot. **47** (1959) (im Druck). — Comar, C. L., and F. B. Zscheile: Plant Physiol. **17**, 198—209 (1942). — Mitrakos, K., E. Bünning u. F. Eberhardt: Z. Naturforsch. **12b**, 813—814 (1957). — Virgin, I. H.: Physiol. Plantarum (Cph.) **10**, 445—453 (1957); **11**, 347—362 (1958). — Withrow, R. B., J. B. Wolff and L. Price: Plant Physiol. (Suppl.) **31**, XIII (1956).

Dr. K. Mitrakos,
Thessaloniki (Griechenland), Botanisches Institut der Universität

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u.a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Ergebnisse der Biologie

Herausgegeben von H. Autrum, E. Bünning, K. v. Frisch, E. Hadorn, A. Kühn, E. Mayr, A. Pirson, J. Straub, H. Stubbe, W. Weidel. Redigiert von **H. Autrum.**

Einundzwanzigster Band: Mit 42 Abbildungen. IV, 226 Seiten Gr.-8°. 1959. DM 30.—

Inhaltsübersicht: **Die Nitratreduktion grüner Pflanzen.** Von E. Kessler, Marburg/Lahn. — **Die Orientierung nach der Schwingungsrichtung linear polarisierten Lichtes und ihre sinnesphysiologischen Grundlagen.** Von K. Stockhammer, München. — **Über die Beteiligung von Sulfhydrylen an biologischen Prozessen.** Von G. Cleffmann, Marburg/Lahn. — **Der Feinbau der Organoide von Amoeba proteus und seine Beeinflussung durch verschiedene Fixierstoffe.** Von F. E. Lehmann, Bern, Schweiz. — **The Ultrastructure of the Retinal Receptors of the Vertebrate Eye.** By F. S. Sjöstrand, Stockholm, Sweden. — **Die Lageorientierung mit Statolithenorganen und Augen.** Von H. Schöne, Seewiesen über Starnberg/Obb. — Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Heidelberger Jahrbücher

Herausgegeben von der Universitäts-Gesellschaft Heidelberg. Jährlich erscheint ein Band.

Band I: Mit 23 Abbildungen. VIII, 181 Seiten Gr.-8°. 1957.

Englische Broschur DM 18.—

Inhaltsübersicht: Aufsätze: **Das Wesen der Rezeption des römischen Rechts.** Von Wolfgang Kunkel. — **Probleme der Weistumsforschung.** Von Karl Kollnig. — **Das mittelalterliche deutsche Epos und die Musik.** Von Ewald Jammers. — **Ein Brief Wilhelm v. Humboldts an Schiller.** Von Arndt Schreiber †. — **Beiträge zur Physiognomik des 16. und 17. Jahrhunderts.** I. Bildnisse des Kaisers Karl V. II. Die Gegenwärtigkeit des Frans Hals. Von Georg Poensgen. — **Die Heidelberger Karmelitenkirche St. Jacobus Major.** Von Peter Anselm Riedl. — Bibliographie: Schriften-Verzeichnis der Heidelberger Dozenten. Veröffentlichungen aus den Jahren 1953—1956. Theologische, Juristische, Philosophische Fakultät und Dolmetscher-Institut.

Band II: Mit 10 Abbildungen. VIII, 192 Seiten Gr.-8°. 1958.

Englische Broschur DM 18.—

Inhaltsübersicht: Aufsätze: **Emanzipation und Staat im frührevolutionären Deutschland vor 1848.** Von Werner Conze. — **Das Hambacher Fest und der südwestdeutsche Frühliberalismus.** Von Fritz Trautz. — **Die Grundlagen der völkerrechtlichen Ordnung nach den spanischen Völkerrechtsklassikern.** Von Antonio Truyol y Serra. — **Der Prudentia-Teppich des Pfalzgrafen Ottheinrich im Kurpfälzischen Museum zu Heidelberg.** Von Annelise Stemper. — **Die beiden Fassungen von Flauberts Education sentimentale.** Von Hans Robert Jauss. — Bibliographie: Schriften-Verzeichnis der Heidelberger Dozenten. Veröffentlichungen aus den Jahren 1953—1956. Medizinische Fakultät. Naturwissenschaftlich-Mathematische Fakultät.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg
Printed in Germany